NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

DR. W. HEUBNER
EM. PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
HEIDELBERG

DR. P. HOLTZ
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
FRANKFURT

DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

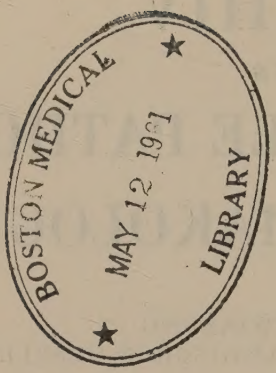
225. BAND

MIT 147 TEXTABBILDUNGEN, DAVON 2 FARBIGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

SPRINGER-VERLAG

1955



Alle Rechte vorbehalten.
Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages
ist es auch nicht gestattet, einzelne Beiträge oder Teile daraus
auf photomechanischem Wege (Photokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.
Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg.
Printed in Germany.

Druck: Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH

Inhalt des 225. Bandes.

Seite

Baerwolff, E., W. Heubner und **W. Koransky,** Über die Reaktion von Blutfarbstoff mit Porphyrexid. Mit 4 Textabbildungen 479

Barton, H., W. Krischke, F. Jung und **A. Graffi,** Die Wirkung des 1-Isopropyl-5-methyl-azulens auf Stoffwechsel, Wachstum und Metastasierung des Mäuseascitescarcinoms. Mit 5 Textabbildungen 260

Benitz, K.-F., Ein Beitrag zur Wirkung von Elastase. Mit 2 Textabbildungen 551

Benthe, H.-F., Zur K^+-Ca^{++}-Wirkung auf die Erregungsleitung im Herzmuskel des Frosches. Mit 4 Textabbildungen 293

Bhattacharya, S. K., W. Heubner und **M. Kramer,** Zur adstringierenden Wirkung von Schwermetallsalzen. Mit 2 Textabbildungen 512

Brendel, W., und **H. L'Allemand,** Der Einfluß von Megaphen auf die Wärmeregulation 87

Breuninger, H., Unblutige Blutdruckmessung an Kleintieren mit dem Kondensatormikrophon nach Brecht-Boucke 190

—, und **W. Schmid,** Über Blutdruckreaktionen auf künstliche Hypo- und Hyperthermie und ihre pharmakologische Beeinflußbarkeit. Mit 5 Textabbildungen 251

Bubnoff, M. v., und **R. Taugner,** Wirkung von Phenothiazinen auf Gefäßspasmen der Niere bei Reizung des Plexus renalis 155

Bühler, M., Papierchromatographische Untersuchungen eines Extraktes aus Froschhaut 126

Creutzfeldt, O., s. **Pichotka, J.,** und **W. Höfler.**

Deininger, R., Über den papierchromatographischen Nachweis der Methylierung von Nor-Evipan zu Evipan 127

Dengler, H., Über die pressorische Wirksamkeit von Arterienwandextrakten 150

Domenjoz, R., Pharmakotherapeutische Weiterentwicklung der Antipyretica-Antalgetica. Mit 3 Textabbildungen 14

Dörner, J., und **H. J. Kuschke,** Besitzen die aus Crataegus gewonnenen Triterpensäuren (Crataegussäuren) eine pharmakodynamische Wirkung? 144

Drescher, J., s. **Zetler, G.**

Duensing, F., s. **Erdmann, W.-D.,** und **K.-P. Schaefer.**

Eckel, H., und **W. Theobald,** Die Wirkung von Retardmitteln auf den Phenolsulfonphthaleinblutspiegel bei der Ratte. Mit 1 Textabbildung 184

Eger, W., Der Einfluß des Butazolidins auf die Schilddrüse. Mit 1 Textabbildung 170

Ehrenbrand, F., s. **Förster, W., C. Herrmann** und **J.-H. Scharf.**

Enders, A., und **H. Noetzel,** Spezifische Veränderungen im Kleinhirn bei chronischer oraler Vergiftung mit Sublimat. Mit 1 Textabbildung . . . 346

Engelhardt, G., Serumanaphylaktische Reaktionen am nervenfreien Hühneramnion 124

—, und **L. Lendle,** Serumanaphylaktische Reaktionen am nervenfreien Hühneramnion. Mit 7 Textabbildungen 402

Engelhardt, A., K. Greeff, W. Richter und **H. J. Schümann,** Vergleichende Untersuchungen mit Mono- und Dicarbonsäureestern des Cholins. Mit 6 Textabbildungen 541

Erdmann, W.-D., F. Duensing und **K.-P. Schaefer,** Zentralnervöse Wirkungen von E 605 am Warmblüter 114

Seite

Erdmann, W.-D., H. D. Kempe und **W. Lühning,** Über die Wirkung von Esteraseblockern (E 605, Eserin und Prostigmin) auf das Atemzentrum von Katze und Hund. Mit 3 Textabbildungen 359

Fazekas, I. Gy., Nachweis von Glucocorticoiden in der Leber 279

Felix, W., Über den Einfluß des Carotissinus auf die Durchblutung der Extremität 152

—, Die Messung des Blutstromes und des Urinflusses mit Thermistoren . . 191

Feller, K., Gasstoffwechselversuche mit einigen Phenothiazinkörpern . . . 90

Filippi, R. G., s. **Häusler, H. F.**

Fleckenstein, A., Physikalisch-chemische Charakteristika depolarisierender und depolarisationshemmender Alkaloide 156

—, und **J. Janke,** Papierchromatographische Trennung der Phosphorsäure-Ester des ruhenden und kontrahierten Muskels 193

Foltz, E. L., s. **Mercker, H.,** und **J. W. West.**

Forell, M. M., s. **Werle, E.** und **L. Maier.**

Förster, W., C. Herrmann, J.-H. Scharf und **F. Ehrenbrand,** Korrelationen zwischen Stoffwechsel-, Schilddrüsen- und Hypophysenveränderungen bei Ratten nach chronischer Verabreichung von NaJ, BAL und Methionin. Mit 6 Textabbildungen 195

Frei, S. s. **Wilbrandt, W.**

Frey, H.-H., und **K. Soehring,** Procainnachweis im Rückenmark während der Periduralanaesthesie bei Hunden 96

Friebel, H., und **Cl. Reichle,** Zur Prüfung von zentral hustenstillenden Arzneimitteln 85

—, und **H. Kästner,** Der Einfluß von Megaphen auf den Verlauf von experimentellen Trypanosomenerkrankungen von Mäusen (Tr. cruzi und evansi). Mit 1 Textabbildung 210

Gerlach, E., Papierchromatographische Trennungsmethoden für die Phosphorsäureester der Niere 130

—, Erläuterungen zur papierchromatographischen Trennungsmethode für die Phosphorsäure-Ester der Niere 193

Giertz, H., Die Aktivierung der Noradrenalin- und Adrenalinhyperglykämie durch Methyldonatoren 174

Golenhofen, K., H. Hensel und **J. Ruef,** Über die Wirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin auf die Muskeldurchblutung des Menschen und ihre Beeinflussung durch Regitin. Mit 2 Textabbildungen 269

Graffi, A., s. **Barton, H., W. Krischke** und **F. Jung.**

Greeff, K., Untersuchungen am isolierten Vagus-Magen-Präparat 121

—, s. **Engelhardt, A., W. Richter** und **H. J. Schümann.**

Groß, E., Über den Triphenylmethanfarbstoff Lichtgrün SF als Sarkomerreger bei der Ratte 175

Grupp, G., F. Kasten und **A. Wiederhold,** Die Durchmesser- und Längenänderung kleiner Arterien vom muskulären Typ durch Druck unter verschiedenen Pharmaka 149

Haas, H., Vergleichende Untersuchungen über Analgetica 442

Habermann, E., Über Permeabilitätsänderungen durch tierische Gifte . . . 158

Halbach, H., Beziehungen zwischen mechanischen und chemischen Einwirkungen auf das isolierte Froschherz 137

Hamacher, J., Synchronisierte Oszillographen-Schirmbild-Photographie einmaliger Vorgänge mit der Kleinbildkamera. Mit 2 Textabbildungen . . 133

Seite

Hamacher, J., und **W. Vater**, Tongesteuerte Manschettendruckschreibung zur unblutigen Blutdruckmessung als neues Registrierprinzip am EKG-Direktschreiber. Mit 3 Textabbildungen 135

Harwart, A., s. **Langecker, H.**, und **K. Junkmann.**

Häusler, H. F., und **R. G. Filippi**, Pharmakologische Strukturanalyse von Nabelschnurarterien 147

Hensel, H., s. **Golenhofen, K.**, und **J. Ruef.**

Herken, H., s. **Neubert, D.**

Herrmann, C., s. **Förster, W., J.-H. Scharf** und **F. Ehrenbrand.**

Herzfeld, E., s. **Stumpf, Chr.**

Heubner, W., s. **Baerwolff, E.**, und **W. Koransky.**

—, s. **Bhattacharya, S. K.**, und **M. Kramer.**

Hirsch, H. H., und **E. Voit**, Versuche zur Vermehrung des Schutzkolloidgehaltes im Harn und ihr Einfluß auf die experimentelle Erzeugung von Harnkonkrementen bei der Ratte 182

Höfler, W., s. **Pichotka, J.**, und **O. Creutzfeldt.**

Holtz, P., und **E. Westermann**, Versuche mit Acetyl-, Propionyl- und Butyrylcholin am isolierten Herzvorhofpräparat. Mit 5 Textabbildungen 421

Huković, S., s. **Stern, P., R. Košak** und **A. Misirlija.**

Janke, J., Über das Verhalten von ATP, ADP und anderen Phosphorsäureestern des Muskels bei Einwirkung depolarisierender Kontrakturstoffe . 160

—, s. **Fleckenstein, A.**

Jung, F., s. **Barton, H., W. Krischke** und **A. Graffi.**

—, s. **Matthies, H.**, und **R. Schäfer.**

Jungblut, P., Die Wirkung von einmaligen intravenösen Adrenalin-Injektionen auf die Nierengefäße der Maus 154

—, Gefäßreaktionen in Mäusenieren während Äthernarkose und nach intravenöser Adrenalin-Injektion beim nichtnarkotisierten Tier 191

—, und **G. Kuschinsky**, Eine Methode zur Beurteilung des Nierengefäßtonus bei Mäusen. Das Verhalten der Nierengefäße der Maus in den verschiedenen Stadien der Äthernarkose. Mit 4 Textabbildungen 533

Junkmann, K., s. **Langecker, H.**, und **A. Harwart.**

Kalkoff, W., Megaphenwirkung und pressoreceptorische Reflexe in ihrem Erfolg am Blutdruck und den Aktionspotentialen 92

Kaller, H., Der Musculus orbitalis und das obere Halsganglion der Ratte als pharmakologische Testobjekte 104

—, Der Musculus orbitalis und das obere Halsganglion der Ratte als pharmakologische Testobjekte. Mit 2 Textabbildungen. 474

Kasten, F., s. **Grupp, G.**, und **A. Wiederhold.**

Kästner, H., s. **Friebel, H.**

Kempe, H. D., s. **Erdmann, W.-D.**, und **W. Lühning.**

Kewitz, H., Über die Aktionssubstanz in sympathischen Ganglien 111

Kleinsorg, H., und **H.-L. Krüskemper**, Einfluß von Kaliumperchlorat auf Schilddrüse und Stoffwechsel 172

—, — und **C. Lopez-Calleja**, Das Serumeiweißbild bei experimenteller Hypo- und Hyperthyreose 496

Klementschitz, W., s. **Lembeck, F.**

Kobinger, W., und **O. Kraupp**, Über die Wirkung von Eserin am d-Tubocurarin-gelähmten Rattenzwerchfell in Gegenwart depolarisierender Muskelrelaxantien 107

Seite

Kobinger, W., und **O. Kraupp**, Über die Wechselwirkungen von d-Tubocurarin, Eserin und depolarisierenden Substanzen am isolierten Rattenzwerchfell, untersucht am Beispiel des Octamethylen-Biscarbaminoylcholins. Mit 4 Textabbildungen 237

Koch, R., Strahlenschutzwirkung des Cysteins 179

—, und **W. Schwarze**, Die Hemmung der α-Naphthylthioharnstoffvergiftung durch Cysteamin und seine Derivate. (Zugleich ein Beitrag zur Toxikologie und Strahlenschutzwirkung dieser Sulfhydrylkörper) 428

Konzett, H., und **E. Rothlin**, Die Wirkung von Veratrum-Alkaloiden auf ein sympathisches Ganglion 101

Koransky, W., s. **Baerwolff, E.**, und **W. Heubner.**

Košak, R., s. **Stern, P.**, **A. Misirlija** und **S. Huković.**

Kramer, M., Biochemische und pharmakologische Differenzierung der Wirkungsweise ödemerzeugender Substanzen 82

—, s. **Bhattacharya, S. K.** und **W. Heubner.**

Kraupp, O., **H. G. Schwarzacher** und **Chr. Stumpf**, Über die pharmakologischen Eigenschaften einiger Polymethylen-Biscarbaminoyl-m-Trimethylammoniumphenole 117

—, s. **Kobinger, W.**

Kreppel, E., und **H. F. Zipf**, Weitere Untersuchungen zum lokalanaesthetischen Wirkungscharakter des Benzyl-Penicillin-Diäthylaminoäthanol-Esters 98

Krischke, W., s. **Barton, H.**, **F. Jung** und **A. Graffi.**

Kroneberg, G., Über periphere und zentrale Wirkungen optisch isomerer Belladonna-Alkaloide. Mit 2 Textabbildungen 522

Krüskemper, H.-L., s. **Kleinsorg, H.**

— und **C. Lopez-Calleja.**

Kübler, W., s. **Ruhenstroth-Bauer, G.**

Kunz, W., und **W. Schmid**, Über Beziehungen zwischen Stoffwechselbeeinflussung und Wachstum bei Mäuse-Ascitestumor 166

Kuschinsky, G., s. **Jungblut, P.**

Kuschke, H. J., s. **Dörner, J.**

L'Allemand, H., s. **Brendel, W.**

Langecker, H., Das Schicksal des 17-α-Oxyprogesterons und seines 17-Capronates im menschlichen Organismus. Mit 1 Textabbildung 309

—, **A. Harwart** und **K. Junkmann**, 1-Phenyl-propanol als Cholerecticum 303

Lembeck, F., und **W. Klementschitz**, Papierchromatographische Untersuchungen über die Reaktionsprodukte des Oxytryptamins mit Formaldehyd 129

Lendle, L., s. **Engelhardt, G.**

Leuschner, F., Über die antagonistische Wirkung von Phenylisopropylamin-Abkömmlingen auf die Motilität der Maus 95

Lindner, J., Zur Frage der Resorptionsverbesserung durch ätherische Öle . . 163

Lopez-Calleja, C., s. **Kleinsorg, H.**, und **H.-L. Krüskemper.**

Lüllmann, H., und **E. Muscholl**, Über das Verhalten der Cholinesterase und des Gewichtes denervierter Rattenzwerchfelle. Mit 1 Textabbildung . . 486

Lühning, W., s. **Erdmann, W.-D.**, und **H. D. Kempe.**

Maas, W., s. **Riechert, W.**

Maibauer, D., Mikrobiologischer Nachweis von Inosit und Cholin im Gewebestoffwechsel 131

Seite

Maier, L., s. **Werle, E.,** und **M. M. Forell.**

Malorny, G., und **F. K. Ohnesorge,** Zur Wirkungsweise synthetischer Morphinderivate 80

—, Über einen neuen Ergotamin- und Calciumeffekt am LANGENDORFF-Herzen. Mit 2 Textabbildungen 139

Matthies, H., F. Jung und **R. Schäfer,** Über Stoffwechselleistungen von roten Blutkörperchen. III. Mit 2 Textabbildungen 352

Mercker, H., E. L. Foltz und **J. W. West,** Durchblutung, Energetik und Sauerstoffversorgung des Herzmuskels bei renaler Hypertonie 142

Misirlija, A., s. **Stern, P., R. Košak** und **S. Huković.**

Muscholl, E., s. **Lüllmann, H.**

Neubert, D., und **H. Herken,** Wirkungssteigerung von Schlafmitteln durch den Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols. Mit 4 Textabbildungen 453

Noetzel, H., s. **Enders, A.**

Oelssner, W., Die Wirkung des Procains und seiner Spaltprodukte auf den Uterus in vitro und vivo 123

Ohnesorge, F. K., s. **Malorny, G.**

Pichotka, J., O. Creutzfeldt und **W. Höfler,** Das Verhalten der Körpertemperatur im Sauerstoffmangel. Mit 6 Textabbildungen 314

—, — —, Die Bewegungen von Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme beim Wechsel zwischen normalen und erniedrigten Sauerstoffspannungen. Mit 3 Textabbildungen 323

—, — —, Die Bewegungen der Körpertemperatur und der Sauerstoffaufnahme bei veränderlicher Wärmeabgabe im Sauerstoffmangel. Mit 2 Textabbildungen 335

Reichle, Cl., s. **Friebel, H.**

Reiter, M., Natriumspeicherung bei der Ermüdung des isolierten Herzstreifens der Ratte 138

Richards, R. K., Das Bisulfit-Phänomen 164

Richter, W., s. **Engelhardt, A., K. Greeff** und **H. J. Schümann.**

Riechert, W., und **W. Maas,** Untersuchungen über Permeabilitätsförderung durch den Sympathicus. Mit 3 Textabbildungen 505

Rothlin, E., s. **Konzett, H.**

Ruef, J., s. **Golenhofen, K.,** und **H. Hensel.**

Ruhenstroth-Bauer, G., und **W. Kübler,** Eine Methode zur Messung von Funktionsänderungen in der Endstrombahn eines durchströmten Rattenhinterleibes. Mit 4 Textabbildungen 287

Schaefer, K.-P., s. **Erdmann, W.-D.,** und **F. Duensing.**

Schäfer, R., s. **Matthies, H.,** und **F. Jung.**

Scharf, J.-H., s. **Förster, W., C. Herrmann** und **F. Ehrenbrand.**

Schaumkell, K. W., Über die Morphokinese und das Strukturbild der Rattenschilddrüse nach Gaben von N-(3′-Dimethylamino)-propyl-3-chlorphenothiazin (Megaphen Bayer) unter verschiedenen experimentellen Bedingungen. Mit 6 Textabbildungen 381

Scheid, H., Studien über die Gewebswasserdurchflutung mit dem Ganglienblocker Pendiomid. Mit 3 Textabbildungen 491

Scheler, W., und **L. Wallis,** Zur Natur von Methämoglobin-Verbindungen . 187

Schmid, W., s. **Kunz, W.**

—, s. **Breuninger, H.**

Seite

Schulemann, W., Grundlagen chemotherapeutischer Forschung unter besonderer Berücksichtigung der Malariatherapie. Mit 6 Textabbildungen, davon 2 farbigen 45

Schümann, H. J., Über die acetylcholinähnliche Wirksamkeit von Gehirnextrakten 110

—, s. **Engelhardt, A., K. Greeff** und **W. Richter.**

Schwarzacher, H. G., s. **Kraupp, O.**, und **Chr. Stumpf.**

Schwarze, W., s. **Koch, R.**

Siess, M., Energielieferung und Muskelfunktion bei Stoffwechselgiften . . . 168

Soehring, K., s. **Frey, H.-H.**

Stern, P., R. Košak, A. Misirlija und **S. Huković**, Bedeutung der Darmflora für die Eisenresorption (Ein weiterer Beitrag zur Eisenresorption aus sterilem Darmkanal) 162

Stumpf, Chr., und **E. Herzfeld**, Zur Frage der Cholinesterase-Hemmwirkung der Polymethylen-dicarbaminsäure-bischolinester 119

—, s. **Kraupp, O.**, und **H. G. Schwarzacher.**

Taugner, R., s. **Bubnoff, M. v.**

Theobald, W., s. **Eckel, H.**

Trendelenburg, U., Die Wirkung von Histamin und Pilocarpin auf sympathische Ganglien und Nebennieren 106

Turba, F., Die Papierchromatographie in der Pharmakologie. Mit 1 Textabbildung 64

Unna, Kl., Selektive Wirkungen einiger Pharmaka auf die Schaltneurone . 101

Vater, W., s. **Hamacher, J.**

Voit, E., s. **Hirsch, H. H.**

Wallis, L., s. **Scheler, W.**

Weidmann, H., Ascorbinsäureherabsetzung in den Nebennieren hypophysektomierter Ratten durch Salicylsäure. Mit 1 Textabbildung 342

Werle, E., M. M. Forell und **L. Maier**, Zur Kenntnis der blutdrucksenkenden Wirkung des Trypsins. Mit 19 Textabbildungen 369

West, J. W., s. **Mercker, H.**, und **E. L. Foltz.**

Westermann, E., Untersuchungen am isolierten Vorhof mit körpereigenen Cholinestern 109

—, s. **Holtz, P.**

Wiederhold, A., s. **Grupp, G.**, und **F. Kasten.**

Wilbrandt, W., und **S. Frei**, Zur Frage des Mechanismus der Digitonin-Hämolyse. Mit 8 Textabbildungen 463

Wollenberger, A., Blockierung der Wirkungen des Protoveratrins A auf den Gehirnstoffwechsel durch Cocain und verwandte Stoffe 165

Zetler, G., und **J. Drescher**, Über den Einfluss von Pharmaka des vegetativen Nervensystems auf die Empfindlichkeit der Gonaden für gonadotrope Hormone 116

Zipf, H. F., Zur Bewertung der Trachealverschlussreaktion von HEAD beim Nachweis endoanaesthetischer Wirkungen 99

—, s. **Kreppel, E.**

A. Eröffnungsansprache zur 21. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft

in Saarbrücken/Homburg vom 3. bis 6. Oktober 1954.

P. Wels (Greifswald): Jedesmal, wenn die Angehörigen eines wissenschaftlichen Faches zu einem Kongreß zusammentreten, so tun sie das mit einem festlichen Gefühl der Spannung und Erwartung, das sich nicht zuletzt auch auf die Eröffnungsrede richtet, von der sie ja nicht nur eine Begrüßung der erschienenen Teilnehmer und Gäste und eine Darlegung der für den Kongreß gegebenen Sachverhalte erwarten, sondern auch eine Kennzeichnung und Festigung des gemeinsamen Strebens. Wenn dieses Mal diese hohe Aufgabe mir zugewiesen worden ist, so erfüllt mich das einerseits mit tiefempfundenem Dank gegen unsere Deutsche Pharmakologische Gesellschaft, andererseits muß ich eingestehen, daß ich von vornherein nur mit einiger Besorgnis und Bangigkeit das Amt des Vorsitzenden übernommen habe. Denn für ein solches Amt ist ein Pharmakologe, der mitten im Fach steht, geeigneter als ein solcher, dessen Lebensarbeit auf einem Randgebiet liegt, das er der Pharmakologie einzugliedern sich bemüht. Er wird es immer schwerer haben, Belange und Aufgaben des Faches glaubhaft zu vertreten als andere, denen durch die mehr zentrale Lage ihrer Arbeitsgebiete das Heimatrecht in der Pharmakologie als Erbe zugefallen ist. So bin ich mir denn auch wohl bewußt, daß die Wahl auf mich nicht so sehr wegen meiner spezifisch pharmakologischen Leistung und Stellung gefallen ist, als vielmehr wegen des Umstandes, daß es in der gegenwärtigen allgemeinen Situation dem Verbundenheitsgefühl der Pharmakologen entspricht, wenn auch einmal ein Fachvertreter aus dem Osten unseres zertrennten Vaterlandes den Kongreß leitet, und ich freue mich, daß es sich inzwischen so gefügt hat, daß ich diese Aufgabe nun an einem extrem westlichen Ort des deutschen Sprachgebietes zu erfüllen habe. Ohne Zweifel hat die Wissenschaft in der Geschichte ihren überpolitischen Charakter erwiesen. Sie bindet Menschen gleicher Veranlagung und gleichen Strebens. Diese Bindung bleibt zwar gewiß nicht unbeeinflußt von Kriegen, Revolutionen und Spannungen unter den Völkern, aber sie übersteht diese Ereignisse und Erscheinungen.

In unserem Jahrhundert wird uns diese Überwindungskraft nicht nur aus dem historischen Rückblick deutlich, der sich auf vergangene Generationen erstreckt, sondern wir erleben sie in Gegenwartsnähe. Die älteren unter uns dienen der Wissenschaft — wenn wir die Zeit seit 1914 ins Auge fassen — schon unter dem vierten Staatssystem. Ein Viertel dieser Zeit ist von den beiden Weltkriegen ausgefüllt, das Übrige durch Zeitläufte, die, von den Vorstellungen unserer Väter und Großväter aus gesehen, gewiß nicht als besonders friedlich bezeichnet werden können. Inmitten dieser Zeit ist unsere Gesellschaft geboren und herangewachsen, jetzt 34 Jahre alt und im Begriff, ihre 21. Tagung abzuhalten.

Schon im Rückblick auf eine solche Zeit und erst recht in noch weiterem Rückblick escheint die Lebenskraft eines Faches als eine Kollektivleistung, an welcher die wenigen großen und die vielen kleinen Beiträge teil haben und in welcher schließlich die Arbeit und der Erfolg des Einzelnen verschwindet. Es ist verständlich, wenn von einem solchen Aspekt aus einmal die Forderung erhoben worden ist, es möge ein Denkmal errichtet werden mit der Aufschrift: „Dem unbekannten Pionier der Wissenschaft". In Gegenwartsnähe aber werden die Individuen sichtbar und bleiben

in der Rückerinnerung des einzelnen Menschen deutlich; und dabei tritt hervor, daß Leistung und Fortschritt in der Wissenschaft, bis herab zum kleinsten Leistungsbeitrag, allezeit gebunden sind an die wissenschaftliche Persönlichkeit.

Es ist kein vernünftiger Streit darüber möglich, ob der eine oder der andere Aspekt den Vorzug verdient. Die Gegensätze Continuum und Individuum sind in dem Bemühen der Philosophen um die Wahrheit bis ins Altertum zurückzuverfolgen. Es sind die beiden „Gesichter der Wirklichkeit" — wie es der Physiker Nils Bohr neuerdings ausgedrückt hat —, deren keines vernachlässigt werden darf, wenn das Ganze erfaßt werden soll. Jede einseitige Bevorzugung des einen zugunsten des anderen hat bisher immer zu einer Entfernung von der Wahrheit geführt. Warum sollte sich diese Erkenntnis, die aus dem Studium der Materie und des Lichtes erwachsen ist, nicht im Leben der Menschen und Völker widerspiegeln, wo in periodischem Wechsel bald die Massen, bald die Individualitäten als das Wichtigere eingeschätzt werden? Führt uns nicht auch hier der forschende Verstand, der nach den Ursachen der Erscheinungen fragt, zu der Vermutung, daß es nicht nur eine Individualkausalität geben könnte, wie etwa die klassische Physik sie allein kennt, sondern daß ihr vielleicht eine Massenkausalität gegenübersteht, die uns nur durch das Mittel der Statistik zugänglich ist, wie es in der neuen Physik bei den Quanten und Elementarteilchen der Fall ist? Und wenn bei einem solchen Vergleich auch sicher keine Kongruenz der Erscheinungen sich feststellen läßt, eine Ähnlichkeit ist doch wohl vorhanden.

Uns aber, im Beginn eines Kongresses, also in einem engen Zeitpunkt der Wissenschaftsgeschichte, ist es erlaubt, ohne viel Gelehrsamkeit diejenigen Glieder in der langen Kette der Forschergenerationen, die unserer Lebenszeit zugehören, als Individuen und Persönlichkeiten zu empfinden und zu werten. Eine solche Empfindung und Wertung wird jedesmal besonders deutlich, wenn einer, dem wir in gleichem Streben und gleicher Arbeit verbunden waren, von uns scheidet. Deshalb ist es eine gute Sitte aller Kongresse, daß am Anfang der Eröffnungsrede unserer Toten gedacht wird.

Am 24. Januar dieses Jahres verstarb der ordentliche Professor an der Medizinischen Akademie in Düsseldorf und Leiter der Pharmakologischen Abteilung der Farbenfabriken Bayer in Elberfeld, Helmut Weese, an den Folgen eines unglücklichen Sturzes, den er im Laboratorium beim Herausnehmen eines Gerätes aus einem Schrank erlitt. In ihm verloren wir den Mann, dem es — unbeschadet der Verdienste anderer — doch in erster Linie zu verdanken ist, daß unsere Gesellschaft nach dem Zusammenbruch am Ende des zweiten Weltkrieges wieder erstand und daß unsere Kongresse ein neues und kräftiges Leben unseres Faches der wissenschaftlichen Öffentlichkeit darbieten konnten. Dazu befähigte ihn nicht nur sein ausgesprochenes Talent zur Meisterung der praktischen Notwendigkeiten, seine Fröhlichkeit und seine Hilfsbereitschaft, die uns alle in lieber Erinnerung sind, sondern auch das hohe Ansehen, das er sich durch seine fachliche Leistung in der ganzen Welt erworben hatte und das er vielfach zu nutzen wußte, wo es galt, die deutsche Pharmakologie und ihre Tagungen zu fördern. Die allgemeine Erfahrung, daß niemand unersetzlich ist, tröstet uns nur wenig in dem schmerzlichen Gefühl, daß wir, die wir jetzt dafür verantwortlich sind, daß unsere Kongresse gelingen, noch nicht recht wissen, wie das ohne Weese geschehen soll, denn die glückliche Vereinigung der Eigenschaften, die er für solche Aufgaben mitbrachte, ist ohne Zweifel selten.

Es ist mir noch in lebhafter Erinnerung, wie ich das erste Mal nach dem Kriege, im Jahre 48, wieder auf den Pharmakologenkongreß kam, morgens, eine Stunde vor Beginn der Verhandlungen in Düsseldorf, nach 38stündiger Reise ohne eigentlichen Schlaf, nicht eben munter, mit den während der Fahrt zu eng gewordenen Schuhen als Zeichen der jetzt längst überwundenen, damals aber verbreiteten Ödembereit-

schaft — wie wurde man erfrischt schon durch den Anblick der Frühstückstafel: Räucherfische, Butter, Wurst, Kaffee, damals überall in Deutschland nach rare Sachen. Es war märchenhaft, und mit Respekt vernahm man: das alles hat WEESE organisiert — bei einem Gesellschaftsvermögen von damals 37 Mark.

Ist es wirklich ein so großer Sprung von diesen Talenten zu jenen, die ihn zu seiner Leistung in der Pharmakologie führten? WEESE war ein Verwertungs- und Benutzungsgenie, ein anschlägiger Kopf von starker Findungskraft, wo es galt, die vom Chemiker erzeugten Stoffe und ihre biologischen Eigenschaften auszunutzen für die Anwendung am Menschen. Er war der Praktiker, der breite Verbindungswege ausbaute zwischen Pharmakologie und Klinik, mit einer seltenen Gabe, Nutzbares aufzuspüren, heranzuholen und es umzugestalten, bis es brauchbar wurde für die Aufgaben des Arztes. Das ist an den uns allen bekannten Marksteinen seines Erfolgsweges leicht festzustellen: Das Prominal als Antiepilepticum, das Evipan und die Einführung der intravenösen Kurznarkose, das Periston als kolloidale Blutersatzlösung, zuletzt seine Beschäftigung mit der von den Franzosen begonnenen Pharmakologie der Phenothiazine und der Benutzung ihrer temperatursenkenden Wirkung für die Narkose. Ohne Zweifel praktische Erfolge der pharmakologischen Forschung, wie sie wohl in so rascher Folge und in solcher Breite und Sichtbarkeit kein Pharmakologe vor ihm aufzuweisen hatte. Er vor allen anderen hat es fertiggebracht, daß die Chirurgen vor pharmakologischer Wissenschaft und Arbeit hohe Achtung gewannen.

Gleichwohl würde man seiner Veranlagung und seinen Verdiensten nicht gerecht werden, wenn man meinen wollte, das Streben nach praktischer Auswertung pharmakologischer Erkenntnisse, vielleicht gar mit einem Seitenblick auf den merkantilen Erfolg, sei das vorwiegende Charakteristikum seiner Arbeit gewesen. Gewiß, er war viel zu sehr dem Leben verbunden, viel zu gesunden Sinnes und zu gescheit, um dergleichen zu verachten. Zudem ist wohl unzweifelhaft, daß die günstige eigene Erwerbsposition seine natürliche Anlage gefördert hat, anderen ein hilfsbereiter und neidloser Kamerad zu sein. Steckt nicht überhaupt ein gut Teil Einseitigkeit und Oberflächlichkeit darin, wenn diejenigen unter den Wissenschaftlern, die aus Veranlagung dem reinen Erkenntnisdrang leben und denen es gegeben ist, hier starke und fruchtbare Triebe zu entfalten, abwertend auf denjenigen herabzusehen, der auch auf den Gewinn bedacht ist? Die sogenannte reine Wissenschaft ist ja nicht etwas, das sich aus sich selbst erhält, wenigstens nicht, wenn man die kurze Frist eines Menschenlebens ins Auge faßt, sondern sie ist nur innerhalb der menschlichen Gesellschaft möglich. In dieser vollzieht sich ein langfristiger Kreisprozeß, der die Betätigung des reinen Erkenntnisdranges erst ermöglicht und nutzbar macht, und an diesem Prozeß sind die Erzeuger und die Verwerter der wissenschaftlichen Erkenntnisse in gleicher Weise beteiligt. Die Parsifal-Natur, die ja auch unter den Forschern vertreten ist, hat bekanntlich zwei Seiten. Die Kehrseite kann den Mitmenschen, welche die reinen Toren erhalten müssen, recht unbequem werden; und diese Mitmenschen sind eben die mit dem Erwerbstrieb Behafteten, die sich auf dem staubigen Feld der Praxis tummeln. Es ist einer der großen Vorzüge der modernen Pharmakologie, daß sie durch die Verbundenheit mit der pharmazeutischen Industrie ihre Jünger vor schädlich einseitiger Auffassung bewahrt und ihnen die beiden Seiten des Mechanismus des wissenschaftlichen Fortschrittes besser nahebringt, als andere Fächer der Medizin das tun können. In dem schönen Roman „Bleak house" von CHARLES DICKENS sagt ein leichtfertiger Mann (wenn auch in wesentlich anderen Zusammenhängen): „Lebt ihr von Eurer praktischen Wissenschaft und laßt uns von euch leben." Als ich das vor kurzem wieder las, ist mir WEESES Frühstückstafel in Düsseldorf eingefallen.

WEESES Persönlichkeit und ihre Auswirkungen in seiner Eigenschaft als Industrie-Pharmakologe geben aber noch zu einer anderen Überlegung Anlaß. Unter den Pro-

duktiven in der Wissenschaft macht man gern einen Unterschied zwischen den Entdeckern und den Erfindern und schreibt den ersteren den höheren Rang zu. Auch in den schönen Ausführungen unseres Meisters HEUBNER über diesen Gegenstand sind die Menschen des Erkennens von den Menschen des Handelns gesondert. In der Tat scheint eine solche Rangordnung in dem Wertempfinden der Wissenschaftler tief verankert zu sein, und vielleicht wird selbst der Mediziner, wenn er sich um eine naturwissenschaftliche Sicht bemüht, der Leistung des Arztes JULIUS ROBERT MAYER, der das mechanische Wärmeäquivalent entdeckte, einen höheren Rang in der Wissenschaft zuerkennen als den zweckbetonten Anstrengungen eines BEHRING oder EHRLICH, obwohl diese durch ein hinzukommendes ethisches Moment als Wohltäter der Menschheit gefeiert werden. Er wird auch nicht geneigt sein, die Einführung der Sulfonamide in die Therapie der Infektionskrankheiten auf die Stufe der KEPLERschen Gesetze oder KANTS Kritik der reinen Vernunft zu erheben, obwohl durch diese letzteren Großtaten der Wissenschaft niemand reicher oder gesünder geworden ist. Indessen wird die zur Zeit höchste internationale Auszeichnung für Wissenschaftler, der Nobelpreis, in gleicher Weise an Entdecker und Erfinder verliehen. Der Preis entfällt ohne Unterschiedsbetonung auf die Quantentheorie und auf das Penicillin. Sollten wir diese mit so viel Sorgfalt erarbeiteten Beschlüsse deshalb als Fehlurteile bezeichnen? Ist bei diesen so verschieden erscheinenden Leistungen nicht nur der Ausgangspunkt und das Ziel des Strebens verschieden, während das Streben selbst in gleichartigen Funktionen der Vernunft sich vollzieht, ob diese nun durch die Absicht des Erkennens oder durch die Absicht des Handelns und Helfens oder gar des Erwerbs angeregt werden? Selbst die Alchimisten in ihrem törichten Begehren nach dem Stein der Weisen haben ja Naturgesetze gefunden, eben weil dieses Begehren, als es erst zur Forschungsarbeit führte, zwangsläufig einmündete in die von allem Ursprung her gegebene und immer gleiche Funktionsweise unseres Erkenntnisvermögens, die dann auch die Lust am Erkennen hervortreten läßt, nicht anders, als sei diese von vornherein die Triebfeder des Handelns gewesen. Liegt vielleicht nicht überhaupt in der wertbetonten Trennung von Erkennen und praktischem Handeln der fruchtlose Versuch einer Urteilsbildung über Vorgänge, die unserem Urteilsvermögen nicht mehr zugänglich sind? Keine Fragen für uns Pharmakologen! Mögen die Philosophen vom Fach sich ihrer annehmen. Gleichwohl wäre es für uns von Interesse, zu hören, was sie sagen, vor allem, wenn es die besondere Struktur unseres Faches beträfe, denn es will mir doch scheinen, als sei bei uns, im Vergleich mit den meisten anderen Teilgebieten der Medizin, eine größere Streubreite der Veranlagungen und Impulse nutzbar. Wir freuen uns der gegenseitigen Toleranz, die durch eine solche Fachstruktur verursacht wird und die zu der Lebendigkeit des Faches beiträgt.

Was hätte wohl WEESE zu diesen Fragen gesagt? Ich habe ihn nicht genau genug gekannt, um darauf eine sichere Antwort geben zu können. Ich denke, über dergleichen machte er sich keine Sorgen. Er benutzte, unbeschwert von den Rangunterschieden zwischen Entdeckern und Erfindern, einfach den gesunden Verstand, mit dem er begabt war, und genoß es, daß dieser Verstand so gut und erfolgreich funktionierte — eine gute Lebensweisheit inmitten der Schwierigkeiten, das Wesen der Forschung philosophisch zu definieren. Das war, wie es mir scheint, auch ein Teil seines Wesens.

Auf diesem Kongreß, wo wir zum erstenmal ohne WEESE sind und es uns allen gemeinsam zum Bewußtsein kommt, daß wir ihn nicht mehr haben, sollten an dem Erinnerungsbild, das uns seine Person vergegenwärtigt, auch diejenigen Züge nicht fehlen, die außerhalb seines fachlichen Wirkens liegen. In den Nachrufen, die ihm gewidmet sind, ist schon manches davon erwähnt und gewürdigt worden, von denen, die dazu berufen waren, weil sie ihm aus persönlicher Freundschaft oder engerer

Zusammenarbeit nahegestanden und ihn wirklich gekannt haben. Mir sind für diese Gedenkrede aus dem Kreis seines beruflichen Wirkens noch weitere dankenswerte Hinweise zugegangen und darunter ein Brief, den er während seines Kriegsdienstes auf dem Balkan im Juni 41 an seine Elberfelder Mitarbeiter geschrieben hat. Er selbst bezeichnet ihn als den längsten Brief seines Lebens. Darin schildert er seine Erlebnisse, die er hatte, als er den Verwundeten dieses Balkanfeldzuges sein Periston brachte. Ein richtiger Feldbrief, aus Athen nach Beendigung des Vormarsches und nach einiger Konsolidierung der Quartierverhältnisse geschrieben, aber doch ganz unter den noch frischen Eindrücken des glücklich Überstandenen und Erreichten; ohne viel Wahl der Worte, wie man zu Kameraden spricht, aber es entsteht ein ungemein plastisches Bild der Kriegsereignisse, der Landschaft, der Menschen und nicht zuletzt der eigenen Tätigkeit — und nur zwischen den Zeilen erkennt man Weeses Tatkraft und Umsicht, seine soldatische Tapferkeit, mit der er es erreichte, daß das Periston an die Front kam. Ohne Zweifel, er hat dieses Mittel nicht nur erfunden, sondern damals auch durch seinen persönlichen Einsatz zur Anwendung gebracht und dadurch vielen Verwundeten das Leben erhalten. In diesem Brief lebt Weese. Er ist ein schönes Erinnerungsstück an ihn für das Werk Elberfeld und neben manchem anderen, das nur seinen Freunden bekannt war, zugleich ein Zeichen des künstlerischen Einschlages, der in ihm war als eine angeborene und charakteristische Eigenschaft seiner Person. — Ich habe den Brief mit ganz besonderem Interesse gelesen, denn damals, im April 41, kurz nach den Ereignissen, die der Brief schildert, traf ich Weese in Athen wieder, wohin ich eine kurze Dienstreise zu machen hatte. Diese Begegnung mit ihm, die in fernem Land und unter ganz anderen Begleitumständen als sonst stattfand, ist mir besonders einprägsam gewesen. Ich erfuhr damals erst, als ich mit ihm auf der Akropolis war und er mir alles sachverständig erläuterte, ganz nebenbei von ihm selbst, daß er der Sohn eines Kunsthistorikers und mit diesen Dingen von Jugend auf vertraut war.

De mortuis nihil nisi bene? Man kann nicht selten auch von urteilsfähigen Menschen hören, daß einem Nachruf, der nach diesem Grundsatz gehalten ist, der Vorwurf der Oberflächlichkeit oder gar der einer Verfälschung des Lebensbildes zu machen sei. Ich meine, es handelt sich bei solchem Vorwurf um ein Mißverständnis. Zu der Zeit, wo Nachrufe gehalten werden, besteht wohl niemals ein Abstand von dem Verstorbenen, der eine wägende und objektivierende, gewissermaßen historische Wertung ermöglichte, und es ist ja auch kein sinnvoller Zweck einer solchen Wertung erkennbar. Das ist nur in viel späterer Zeit möglich und da auch nur bei ganz wenigen Menschen von Interesse. Daß ein Verstorbener während seines Lebens Mängel und Schwächen gezeigt hat und ihnen zuzeiten unterlag, ist immer wahrscheinlich. Er wäre ja sonst kein Mensch gewesen. Was sich aber am Ende seines Lebens im Urteil der Zeitgenossen widerspiegelt, die ihm durch Beruf und Arbeit verbunden waren, das wird auf ganz natürliche Weise von dem Gefühl des Abschieds beherrscht, das die Mängel verblassen läßt und die Vorzüge stark in Erinnerung ruft. Gewiß, de mortuis nihil nisi bene! Und hier ist es leicht, diesem Grundsatz zu folgen, denn es war des Guten genug an ihm zu finden, das in unserem Gedächtnis bleiben und lange fortleben wird.

Wir haben in unserer Gesellschaft noch einen anderen schweren Verlust zu beklagen. Am 2. März dieses Jahres verstarb im 60. Lebensjahre Frau Prof. Klotilde Gollwitzer-Meyer, die erfolgreiche Vertreterin eines Zweiges der Medizin, welcher der Pharmakologie verwandt und zu wesentlichen Teilen in ihr enthalten ist: der pathologischen Physiologie. Nach langer klinischer Tätigkeit, zum Teil in leitender Stellung, und schon mit dem Professortitel versehen, habilitierte sie sich 1932 in Hamburg für dieses Fach und zugleich für Pharmakologie und übernahm dort später von Bornstein das Institut für experimentelle Pathologie und Balneologie, das eine

Zweigstelle in Bad Oeynhausen hatte. Gerade darauf, daß die Hauptinhalte der pathologischen oder klinischen Physiologie schon in anderen Fächern stecken, ist es wohl zurückzuführen, daß sie sich als selbständiges Lehrgebiet innerhalb des ohnehin schon überfüllten Lehrplanes der Medizin nicht leicht durchzusetzen vermag. Es bedarf schon starker Persönlichkeiten und nachhaltiger Anstrengungen, um eine Leistung hervorzubringen, die den Nutzen der pathologischen Physiologie als eines herausgehobenen medizinischen Sonderfaches weithin deutlich werden läßt. Solche Voraussetzungen aber trafen bei Frau Gollwitzer-Meyer zu. Eine gutausgebildete Internistin und ideenreiche Physiologin von ausgesprochenem experimentellem Geschick, vermochte sie Fragen aufzuwerfen, die für die Klinik und die Physiologie gleich bedeutsam sind, und Antworten zu finden, die ihren Namen schon in jüngeren Jahren bekannt machten und ihr dann immer mehr Anerkennung und Achtung verschafft haben. Ihre Arbeit richtete sich ganz überwiegend auf die großen Korrelations- und Steuerungsfragen im Bereich der Atmung und des Kreislaufs. Sie gingen in der ersten Periode ihres Schaffens von der Blutgas-Analyse und dem Säure-Basen-Gleichgewicht aus und wandten sich später der Energetik des Herzens, der Coronardurchblutung und dem venösen Anteil des Blutumlaufes zu. Sie erhob auf diesen Gebieten eine Reihe von klärenden Einzelbefunden und wertete sie für klinische Fragen, insbesondere für die Bäderlehre aus. Auch eigentlich pharmakologische Einzelprobleme, wie die Wirkung des Strophantins, des Adrenalins, des Acetylcholins und des Histamins, sind in diese umfangreichen und ein weitgestecktes Ziel anstrebenden Untersuchungen einbezogen. Ein großes Verdienst erwarb sie sich auch durch ihre klaren und tiefsachkundigen Übersichtsdarstellungen in Handbüchern und in den „Ergebnissen der Physiologie". Der Krieg nahm ihr alle Mitarbeiter und zerschlug ihre Arbeitsstätten in Hamburg und Oeynhausen; aber mit bewundernswerter Tatkraft und Zähigkeit erstellte sie mit den geretteten Resten neue Forschungsmöglichkeiten und wußte sie mit Inhalt zu erfüllen, auch dann, wenn sie ganz allein weiterarbeiten mußte. Es ist ein wahrhaft tragisches Geschick zu nennen, daß ihr Leben endete angesichts des Emporwachsens eines nach ihren Plänen großangelegten Klinisch-Physiologischen Instituts, das in Bad Oeynhausen für sie errichtet wurde und das ihr endlich Arbeitsmöglichkeiten geboten hätte, wie sie sie sich ihr Leben lang gewünscht hatte. Ein Ausgleich ist es, daß körperliches Leiden ihr erspart blieb. Sie wurde vom Tode ereilt im Nachmittagsschlaf nach einem von freudigen Schaffen erfüllten Vormittag.

Bezeichnend für Frau Gollwitzer-Meyers Leben ist der große Freundeskreis, den sie im Inland und noch mehr im Ausland hatte. Die Wertschätzung ihrer Person und ihrer Arbeit kam unter anderem auch darin zum Ausdruck, daß sie 1949, als erste deutsche Physiologin nach dem Kriege, von der Universität London eingeladen wurde, über ihre Arbeitsgebiete in drei Übersichtsvorlesungen zu berichten. Das hat sie getan und ist im Anschluß daran drei Monate lang als Gastprofessor der Physiologie in England geblieben. Auch schon vor dem Kriege war die Anerkennung ihrer Leistung zum Ausdruck gekommen. Auf dem internationalen Kongreß in Zürich 1938 leitete sie die Sektion „Herz- und Blutkreislauf". Auf ihrem letzten Physiologenkongreß, 1950 in Kopenhagen, hat sie sich dann recht von Herzen ihrer großen Beliebtheit und der Achtung erfreuen können, die ihr von vielen entgegengebracht wurde.

Es mag sein, daß das alles durch die Bescheidenheit und Liebenswürdigkeit gefördert wurde, die sie in Diskussionen und Unterhaltungen auszeichnete. Sie war bei aller ihrer Gelehrsamkeit eine echte und liebenswerte Frau, woran wir alten Greifswalder uns noch sehr gut erinnern aus der Zeit vor jetzt fast 30 Jahren, als sie bei uns Assistentin an der Medizinischen Klinik unter Hermann Straub war. Dennoch hat die Gewinnung von Freundschaften im Bereich der Wissenschaft

sicher auch noch tiefere Gründe, die allgemeinerer Art sind und im Einzelfalle nur einmal wieder bestätigend hervortreten. Es ist ein nicht selten anzutreffender Irrtum, daß die wissenschaftliche Leistung und die Wesensart eines Menschen voneinander unabhängig sein könnten, doch jeder Sachkundige weiß, daß die Forschertätigkeit ein sehr verläßlicher Prüfstein auch des Charakters ist, meistens viel verläßlicher als andere Charakterproben, die von Zeit zu Zeit eine Massenüberbewertung erfahren, und daß gleiches Streben und gleiche Fähigkeit, die Probe zu bestehen, die Menschen zusammenführt wie nicht leicht etwas anderes. Das trifft zwar nicht auf die wissenschaftliche Leistung allein zu; auch ein guter Handwerker wird selten Freundschaft mit einem schlechten haben; aber ohne Zweifel treten solche Zusammenhänge noch stärker und mit größerem Wirkungsradius bei der Forschungsarbeit hervor.

Es gibt ein merkwürdiges, jetzt schon altes französisches Buch, das vor mehr als 40 Jahren ins Deutsche übersetzt worden ist, betitelt „Der Wert der Wissenschaft", und es stammt von keinem Geringeren als dem Mathematiker Henri Poincaré. Darin heißt es: „Wenn ich hier von der Wahrheit spreche, so meine ich selbstverständlich in erster Linie die wissenschaftliche Wahrheit; aber ich meine auch die moralische Wahrheit, von der das, was man Gerechtigkeit nennt, nur eine Seite ist. Es mag scheinen, als ob ich mit Worten spiele, als ob ich unter einem Namen zwei Dinge vereinige, die nichts Gemeinsames haben; daß die wissenschaftliche Wahrheit, die man beweisen kann, in keiner Weise der moralischen Wahrheit gleicht, die man fühlen muß. – Und doch kann ich sie nicht trennen, und die, welche die eine lieben, können nie die andere nicht lieben. Um die eine wie die andere zu finden, muß man sich bemühen, seine Seele vollkommen freizumachen vom Vorurteil und von der Leidenschaft; man muß zu unbedingter Aufrichtigkeit gelangen."

Ist es nicht so, daß dieses Bestreben, das aus der Forschungsarbeit erwächst, den Hauptfaktor darstellt, der die Wissenschaftler auch zu persönlichen Freundschaften zusammenführt, weil eben bei der Arbeit auch die Gleichartigkeit der Gesinnung und des erstrebten Zieles hervortritt? Und ist es nicht andererseits auch so, daß hier ganz natürliche Abgrenzungen gegenüber den Menschen entstehen, in deren Natur es nicht liegt, sich der Aufrichtigkeit zu befleißigen?

Ich zweifle nicht, daß sich die Richtigkeit solcher allgemeinen Wahrheiten mit noch größerer Wirksamkeit an dem Leben von Wissenschaftlern aufzeigen ließe, die viel mehr Ruhm auf ihren Namen gehäuft haben, als Frau Gollwitzer-Meyer das konnte. Ganz sicher aber hatte sie grundsätzlichen Anteil an diesen Eigenschaften, die zur Freundschaft unter den Forschern führen.

Ich bitte Sie, sich zu Ehren der verstorbenen Mitglieder unserer Gesellschaft von Ihren Plätzen zu erheben. —

Im Strom des wissenschaftlichen Fortschritts ist jedesmal der Lebensabschluß von Menschen, die etwas Bedeutsames geleistet haben, für die Überlebenden, mit denen sie zusammen strebten und wirkten, ein Anlaß zur Besinnung auf die Aufgaben der Arbeit. Was die Aufgaben unseres pharmakologischen Faches anbelangt, so sollte ja unter Pharmakologen davon nicht viel zu reden sein, aber es ist doch merkwürdig, wie verschieden die Ansichten hier sind. Liegt das daran, daß unsere Arbeit ein so schwieriges Objekt hat, daß sie so weit verzweigt ist oder in so vielen Teilen von keinem weithin sichtbaren Erfolg gekrönt? Liegt es daran, daß an mehreren Stellen unverkennbare Fortschritte in der Arzneitherapie im wesentlichen ohne die Fachpharmakologen vor sich gegangen sind? Selbst auf pharmakologischen Kongreßreden hat man hören können, daß, zum wenigsten im Kreise medizinischer Laien, Zweifel darüber herrschten, ob die Pharmakologen vielleicht bessere Apotheker seien, und ob sie letzten Endes überhaupt selbst wüßten, was sie eigentlich vorstellen. Nun, auch solche Erörterungen beleben einen Kongreß, aber vielleicht sollte

man sich doch hüten, sie fortzusetzen, sonst kann es uns noch passieren, daß sich jemand findet, der sie uns glaubt, wenn sie erst gedruckt sind und in jedermanns Hand kommen können. Denn humorlose Leute, die keinen Spaß begreifen, gibt es nicht allzuwenige. Es ist zwar wahrscheinlich, aber man kann es nicht genau wissen, ob schon alle Leute ausgestorben sind die den Pharmakologen in der Medizin für mehr oder minder überflüssig halten, denn so etwas kam früher vor. Wer heute in der Lage ist, die medizinische Weltliteratur auch nur einigermassen zu übersehen, kann nicht lange im Zweifel darüber sein, daß das Dreierfach Physiologie — Physiologische Chemie — Pharmakologie der Träger des größten Fortschrittvolumens in der theoretischen Medizin ist. Das soll gewiß nicht bedeuten, daß wir die großen Leistungen der übrigen zu diesem Gebiet gehörenden Fächer verkennen — etwa die der Bakteriologie, der Vererbungslehre, der Anatomie, der Entwicklungsgeschichte. Je tiefer aber die Erkenntnis auf allen diesen Gebieten in das Naturgeschehen eindringt, desto mehr muß sie aus dem großen Sammelbecken schöpfen, das als „Biochemistry" bezeichnet wird, und diesem sind die Physiologie einerseits und die Pharmakologie andererseits am unmittelbarsten angegliedert. Damit aber rufen wir uns auch ins Gedächtnis zurück, wohin wir im Grunde gehören: Pharmakologie ist Physiologie der Arznei- und Giftwirkungen. Damit sage ich gewiß niemanden unter Ihnen etwas Neues. Schon vor mehr als 40 Jahren hat Hans Horst Meyer auf einer der ersten Zusammenkünfte der deutschen Pharmakologen den Anschluß an die Physiologentagungen empfohlen — wie wir in der Eröffnungsrede unseres Nauheimer Kongresses vor einigen Jahren von Heubner hörten, der dieser Zusammenkunft beigewohnt hat. Mein erster Pharmakologenkongreß 1925 in Rostock war auch mit der Tagung der Physiologen verbunden. Ich war damals noch so unerfahren in den verschiedenen Erscheinungsweisen der Pharmakologie, daß ich diese Verbundenheit für etwas Selbstverständliches hielt. Seitdem haben wir viele Male weit entfernt von den Physiologen getagt. Nun aber liegt wieder ein Vorstandsbeschluß vor, daß wir so bald als möglich erneut mit den physiologischen Chemikern zusammen unseren Kongreß abhalten wollen, und wir hoffen, daß die Gesellschaft diesen Beschluß gutheißen wird.

So sehr es aber auch notwendig ist, daß wir uns auf die Physiologie als die Grundlage unseres fachlichen Wirkens besinnen, so ist es doch nicht minder notwendig, festzustellen, daß gerade bei uns die Grundlage noch nicht die Totalität des Wirkens bedeutet. Die Pharmakologie ist nicht nur in einem wesentlichen Teil ihrer Forschung, sondern auch in ihren Aufgaben des Unterrichts in viel höherem Maße, als es bei den Physiologen und den physiologischen Chemikern der Fall ist, auf die Bedürfnisse des Arztes ausgerichtet und braucht auf diesen Gebieten den engen Kontakt mit den praktischen Gegebenheiten und Erfordernissen der Arzneitherapie und des ärztlichen Schutzes gegenüber den Vergiftungsgefahren. Diese der Pharmakologie eigentümliche Zweiseitigkeit der Ausrichtungen bedingt einerseits die Schwierigkeit, es den Physiologen und physiologischen Chemikern an Geschlossenheit und Einheitlichkeit des Faches gleichzutun, trägt aber andererseits zu der Lebendigkeit und Vielgestaltigkeit bei, die in der Entwicklung unseres Faches in den letzten Jahrzehnten deutlich hervorgetreten ist und sich nicht zuletzt auch im Gesamthabitus unserer Kongresse geäußert hat. Es wird für uns immer ein vergebliches Bemühen bleiben, die Pharmakologentagungen nach einheitlichen Grundsätzen auszurichten. Es liegt — jedenfalls mehr, als das bei anderen Gebieten der theoretischen Medizin der Fall ist — im Wesen unseres Faches, daß uns jeder Kongreß vor neue Aufgaben der Gestaltung und Gliederung stellt. Ich halte das für keinen Nachteil.

Aus der Mittelstellung des Faches zwischen physiologischer Theorie und ärztlicher Praxis ergeben sich durch die neuere Entwicklung der Arzneitherapie aber noch besondere Aufgaben, die am Beginn eines Pharmakologenkongresses nicht un-

erwähnt bleiben sollten. „Die Arzneianwendung ist heroischer geworden" heißt es in der Vorrede zur 7. Auflage des bekannten Pharmakologiebuches von Sollmann. Der alte ärztliche Grundsatz des „Nihil nocere" scheint ins Wanken geraten zu sein — gewiß von vornherein Anlaß genug für den Pharmakologen, sich an sein Wächteramt zu erinnern, das er in der Arzneitherapie hat und das er auszuüben sucht durch Analyse und Sicherstellung von Nutzen und Schaden der Arzneiwirkungen mit physiologischen Methoden. Indessen zeigt eine nähere Prüfung der Sachverhalte schnell, daß es sich hier gar nicht um ein Absinken des ärztlichen Verantwortungsgefühls handelt, sondern nur um ein verändertes Betätigungsfeld der Verantwortung. Diese Veränderung ist hervorgerufen durch das Anwachsen der Zahl ätiologisch wirksamer Heilstoffe, das in den letzten Jahrzehnten rascher vor sich gegangen ist als in den davorliegenden Jahrhunderten. Die Verantwortungsfrage hat sich zwar nicht grundsätzlich geändert, sie ist aber heute dennoch ein wenig anders zu stellen als vor 50 Jahren. Sie lautet nicht mehr: Kann ich es verantworten, ein Medikament anzuwenden, von dem ich weiß, daß es auch Schaden machen kann, sondern: Kann ich es verantworten, die Anwendung eines als wirksam erkannten Medikamentes zu unterlassen, nur deshalb, weil es vorkommen kann, daß das Medikament auch Schaden macht und ich nicht ganz genau weiß, wie groß der mögliche Schaden im gegebenen Falle sein mag? Hier ist, wie überall in der naturwissenschaftlichen Medizin, der Übergang vom nur Qualitativen ins Quantitative das naheliegende Wunschbild. Die Größe des Nutzens soll zur Größe des Schadens in meßbare Beziehung gesetzt werden. „Der wichtigste Schritt in dem Fortschritt einer jeden Wissenschaft ist das Messen von Größen", so heißt es in der „Theorie der Wärme" des Physikers James Clerk Maxwell, der auch die elektromagnetische Theorie des Lichtes begründet hat, und dieser Ausspruch ist als Leitwort benutzt in dem Buch über den Stoffwechsel der Tumoren des Mediziners Otto Warburg, dessen quantitative Arbeitsweise gewiß auch dem Pharmakologen ein Vorbild sein kann.

Wie weit aber sind wir hier noch von einem solchen Ziel entfernt! Welch ungleich größere Schwierigkeiten, als der Laboratoriumsforscher sie hat, türmen sich auf, wo es gilt, den Übergang zu finden zwischen dem messenden Laboratoriums experiment und der Abschätzung des Nutzens und Schadens von Arzneiwirkungen am kranken Menschen! Die quantitative Pharmakologie sieht sich vor Aufgaben gestellt, die an den Physiologen entweder gar nicht herantreten, auf alle Fälle aber für ihn keine so deutliche Dringlichkeit oder gar Unausweichlichkeit haben. Die Unterschiede zwischen den beiden Fächern in der Verpflichtung zur Anwendung des Wissens treten nicht minder deutlich hervor als die Verbundenheit und methodische Gleichartigkeit in der Erzeugung des Wissens. Das wird sich auch bei aller Vorsicht, welche durch die Einbeziehung der Physiologie in viele neue Probleme des technischen Fortschrittes geboten ist, sagen lassen. Wohl können einzelne pharmakologische Institute ihren Tätigkeitstyp mit Nutzen der Physiologie so weitgehend angleichen, daß nur unwesentliche Unterschiede mehr bestehen, aufs Ganze gesehen aber bedarf das pharmakologische Fach unbedingt auch der Verbundenheit mit der Klinik und der Kenntnis der dort wirksamen Faktoren für die Gewinnung von Urteilen über Arzneiwirkungen, die manchmal doch wesentlich von dem abweichen, was man von der pharmakologischen Analyse her gewohnt ist, und dennoch oft von entscheidendem Wert sind. Ich meine das, was gemeinhin unter dem großen Komplex der ärztlichen Erfahrung verstanden wird. Es ist notwendig, daß der Pharmakologe immer auch für solche Formen der Urteilsbildung aufgeschlossen bleibt. So unverkennbar es ist, daß er in der Analyse der Arzneiwirkungen mit den Mitteln der Physiologie, der Chemie und der Physik fortschreitet, so wenig kann es gerade angesichts der neuen Arzneifragen nützlich sein, die Naturwissenschaftlichkeit der Pharmakologie als Steckenpferd zu reiten — man sollte sie mehr als selbstverständ-

lichen Besitz handhaben — was übrigens nicht nur hier bei den modernen Problemen, sondern auch bei anderen Gelegenheiten deutlich wird, wie z. B. bei den uralten Fragen der volkstümlichen Arzneianwendung.

Aber nicht allein nach der Klinik hin besteht ein natürlicher und mit dem Wesen des Faches verbundener Zug für die Pharmakologie. In der gegenwärtigen Periode der stürmischen Entwicklung der Arzneitherapie tritt auch viel deutlicher als in den vorangegangenen Jahrzehnten hervor, daß die Aufgaben der pharmakologischen Universitäts-Institute sich nicht in Forschung und Lehre erschöpfen, sondern daß hier als drittes Tätigkeitsfeld das Gutachtenwesen hinzutritt. Ich meine hier nicht, oder zum wenigsten nicht in erster Linie, die Erstattung von Gutachten an einzelne Firmen der pharmazeutischen Industrie, denn diese Nebentätigkeit der Pharmakologen hat sich, obwohl sie hier und da von unverkennbarem Nutzen gewesen ist, früher nicht immer in Formen vollzogen, die dem Ansehen des Faches zuträglich waren, sondern ich meine vor allem das der Öffentlichkeit dienende Gutachten in Arzneifragen. Dieses Tätigkeitsfeld wächst jetzt so rasch, daß es die Leistungsfähigkeit der Universitäts-Institute übersteigt. Überall in den Kulturländern entstehen besondere Arzneimittelprüfanstalten oder es werden solche geplant, und in ihnen gewinnt die Pharmakologie zu ihrem nicht geringen Nutzen erneut die natürliche und auch geschichtlich begründete Verbindung mit der Pharmazie, die über lange Zeit stark gelockert oder ganz verlorengegangen war. Das mag schon dadurch gekommen sein, daß Pharmazeut und Pharmakologe verschiedenen Fakultäten angehören, eine Organisation, deren Reformbedürftigkeit klar ist, wenn auch die Durchführung der Reform keineswegs nur äußerlichen Schwierigkeiten begegnet, sondern der Überwindung von Gegensätzen bedarf, die im Wesen der Fächer verankert sind und auch wohl in der verschiedenen Struktur der Menschen, die sich in dem einen oder dem anderen der beiden Berufe ansammeln. Die Lehre von der Herkunft und der Beschaffenheit der Arznei zieht andere Veranlagungen an sich als die Lehre vom Wirkungsmechanismus der Arznei. Das der Öffentlichkeit dienende Gutachten in Arznei- und Giftfragen aber erfordert Kräfte aus beiderlei Richtungen.

Das tritt nicht nur bei den neuen Arzneimitteln hervor, sondern ganz allgemein auch da, wo es für ein pharmakologisches Institut gilt, Sachverständigkeit in der praktischen Toxikologie zu erweisen. Ein guter Apotheker unter den Assistenten eines in der Hauptsache physiologisch ausgerichteten Pharmakologie-Institutes ist immer von großem Wert. Ob wohl Flury und Führer ihren Ruf als toxikologische Experten unter den deutschen Pharmakologen gewonnen hätten, wenn sie nicht vorher Apotheker gewesen wären? Ich glaube es nicht.

Wenn also auch physiologisches Wissen und physiologische Methoden der unerschöpfliche Nährboden sind, in dem die Pharmakologie wurzelt, so ist eben doch die Verzweigung des Faches eine andere und ungleich mannigfaltigere als die der Physiologie. Daher die größere Aufnahmefähigkeit unseres Faches für untereinander sehr ungleich veranlagte Jünger, was dann eben jene Vorteile und Nachteile bringt, die das pharmakologische Fach charakterisieren.

Diese Verzweigung aber mag Anlaß dazu geben, wenigstens noch einen kurzen Blick auf einzelne dieser Zweige zu werfen, wobei ich keineswegs verkennen will, daß dabei immer nur ein subjektives Bild entstehen kann, das je nach dem Stand, den der einzelne in der Pharmakologie innehat, verschieden ausfallen muß und das deshalb an mehr als einer Stelle zur Kritik und zur Korrektur Anlaß geben mag. Es wird aber kaum ein Zweifel darüber aufkommen, daß dasjenige Gebiet, das den größten Zuwachs der Pharmakologie darstellt und die bedeutsamsten Wege zu therapeutischen Zielen eröffnet, die Chemotherapie der Infektionskrankheiten ist. Wenn sie auch nur teilweise aus dem Stamm der Pharmakologie als natürlicher Zweig herausgewachsen ist und vielleicht sogar zum größeren Teile ursprünglich von

anderen Wurzeln ernährt wurde, so hat sich doch erwiesen, daß sie aufpfropfbar ist, und sie kann dabei nicht nur den pharmakologischen Baum um veredelte Früchte bereichern, sondern es sind deutliche Anzeichen dafür vorhanden, daß sie sich auch selbst besser entwickelt, als das vorher möglich gewesen wäre, seitdem ihr pharmakologische Säfte zufließen. Ich glaube, wir freuen uns alle, daß ein Chemotherapeut von Weltruf, der nun schon seit 1½ Jahrzehnten ganz der akademischen Pharmakologie zugehört und das gesamte Fach an einer größeren Universität vertritt, uns wiederum einen Einblick in sein Arbeitsgebiet unter allgemeineren Gesichtspunkten geben wird.

Ein nicht zu unterschätzender Zuwachs ist auch das neue, der Chemotherapie ein wenig verwandte Gebiet der Insekticida oder, besser und allgemeiner, der zur Schädlingsbekämpfung geeigneten Stoffe. Gerade an diesem neuen und praktisch so wichtigen Betätigungsfeld des pharmakologischen Wissens wird der Vorteil erkennbar, den die Angliederung von Grenzgebieten bringen kann, indem diese Angliederung dazu führt, daß alte und scheinbar schon festumrissene Begriffe des Stammfaches überprüft und die Voraussetzungen für ihre Gültigkeit neu festgelegt werden können, wie etwa die Begriffe Kontakt, Resorption und Transport in ihrer toxikologischen Bedeutung.

Aber auch ganz alte pharmakologische Gebiete haben im Laufe der letzten Jahrzehnte solche Wandlungen erfahren, daß sie heute in neuem Gewande erscheinen und neue zusammenfassende Darstellungen erfordern, wie wir es z. B. von den Fiebermitteln auf diesem Kongreß von berufener Seite hören werden. Und wenn wir die Vorschläge überblicken, die aus den verschiedenen pharmakologischen Instituten für unsere kommenden Tagungen bereits gemacht worden sind, so sieht man, wieviel mehr noch unsere Fachvertreter von alten Problemen Neues zu sagen wissen, etwa aus den großen Wissensbezirken des zentralen und des vegetativen Nervensystems, des Kreislaufs, der Anaphylaxie, der schädlichen Chemikalien in unserer Nahrung, und — last not least — der Zellpharmakologie, die jetzt ebenfalls nicht mehr jung ist, bei uns in Deutschland bis vor kurzem aber leider so wenig gepflegt wurde, daß es zweifellos die beste Lösung war, sie für unser Handbuch in Originalpackung, General Pharmacology, aus England zu beziehen.

Wahrscheinlich kann ich hier nur mit besonderer Vorsicht daran erinnern, daß unter den Zuwachsgebieten der Pharmakologie seit einiger Zeit auch wieder die Lehre vom Pharmakon Strahlung eine Rolle spielt, denn die Eröffnungsansprache für einen Kongreß soll man gewiß nicht dazu benutzen, pro domo zu sprechen. Andererseits wäre es ein sehr unbescheidener Anspruch, wenn ich die Verbindung zwischen Pharmakologie und physiologischer Strahlenlehre allein auf das Greifswalder Institut beziehen würde, denn unser Anteil an der Aufzeigung solcher Verwandtschaftsbeziehungen ist nur ein kleiner, wie uns der vor wenigen Wochen in Amsterdam abgehaltene internationale Kongreß für Photobiologie in aller Deutlichkeit gezeigt hat. Außerdem werden sich die Älteren unter uns sehr wohl daran erinnern, daß wir schon einmal einen Kongreß abgehalten haben, der sich den Grundlagen der Strahlentherapie widmete — in Münster, 1929, zusammen mit der Deutschen Gesellschaft für Lichtforschung. Auch die Isotopen-Referate der kürzlichen Göttinger Tagung ermutigen hier, auf solche Zusammenhänge hinzuweisen. Aber auch in weit zurückliegender Zeit sind enge Berührungspunkte zu finden: Auf einer der ersten Zusammenkünfte der deutschen Pharmakologen im Jahre 1904, in Leipzig, berichtete Walter Straub, neben Hans Horst Meyer der Begründer der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, über seine noch heute als grundlegend angesehenen Versuche zum Thema der photodynamischen Erscheinung, deren Begriffsbestimmung bekanntlich durch die Arbeiten des Münchener Pharmakologen v. Tappeiner und seines Assistenten Jodlbauer erfolgt war. Und noch früher, jetzt

vor 100 Jahren, wurde ein damals schon altes Greifswalder „Handbuch der Arzneimittellehre" neu herausgegeben von dem ersten selbständigen Vertreter des pharmakologischen Faches an unserer Universität, Prof. Laurer, und in diesem Buch ist einer der fünf Hauptabschnitte der Arzneimittellehre als „die Lehre von den imponderablen und physikalischen Heilmitteln" bezeichnet, und zu diesen Heilmitteln gehörten natürlich auch die Strahlungen. Was allerdings die Imponderabilität anbelangt, so sind wir heute nicht mehr ganz der damaligen Meinung, seitdem durch Experimente belegt ist, daß Materie zerstrahlen und Strahlung sich materialisieren kann und daß sich diese Umsetzungen quantitativ nach der Einsteinschen Gleichung vollziehen. Wir sollten deshalb heute eigentlich nicht mehr, sondern eher weniger Hemmungen als damals haben, das Heilmittel Strahlung der Materia medica zuzurechnen, aber die Physik hat den Medizinern schon immer mehr Schwierigkeiten gemacht als die Chemie. Die Pharmakologen bilden davon keine Ausnahme, und damit mag es zusammenhängen, daß die Pharmakologie sich seit jener alten Zeit mehr und mehr auf die stofflichen Pharmaka verengt hat, obwohl sicher jeder von uns leicht begreift, daß die Heilwirkung radioaktiver Stoffe nicht durch deren chemische Natur bedingt ist, sondern durch die von diesen Stoffen ausgehende Strahlung, und daß andererseits ultraviolettes Licht nicht unmittelbar heilend auf die Rachitis wirkt, sondern durch Vermittlung eines in der bestrahlten Haut entstehenden stofflichen Pharmakons. Ferner: Der Unterschied zwischen Arznei und Gift läuft überall auf eine Dosierungsfrage hinaus. Das rapide Anwachsen der Vergiftungsmöglichkeiten mit Strahlen, seitdem die möglichen Strahlendosen sich durch das Bemühen um den Energiegewinn aus dem Atomkern so stark vergrößert haben, wird mit Sicherheit einen neuen Zweig der Toxikologie entstehen lassen. Es wäre schade, wenn diese kommende Entwicklung ohne die Pharmakologen vor sich ginge, schon deshalb, weil hier Probleme auftreten, die einen tiefen Einblick in das zellphysiologische Geschehen gewähren. Ich glaube keinesfalls, daß jemand, der sich nachhaltig mit dem Pharmakon Strahlung beschäftigt, eine geringere Kenntnis der allgemeinen physiologischen Grundlagen unseres Faches gewinnt, als derjenige, der sich etwa mit den Digitalis- oder Mutterkornstoffen abgibt, oder die Chemotherapie der Infektionskrankheiten zu seiner Lebensaufgabe macht, oder seine Arbeit der Toxikologie der organischen Lösungsmittel zuwendet. Weiteres aber darf ich jetzt, als ein immerhin Mitbeteiligter, zum Lobe der Pharmakologie der Strahlenwirkungen nicht mehr anführen. Demjenigen, der mit den Sachverhalten vertraut ist, sagen ja solche Erörterungen auch nichts Neues, und bei demjenigen, der sie nicht glauben will, werden auch Beweisführungen nichts nützen. In den hier betrachteten Zusammenhängen ist die Strahlenlehre ja auch nur eines unter den Zuwachsgebieten, welche alle dazu beitragen, die Pharmakologie nicht nur zu vergrößern, sondern auch zugleich ihr naturwissenschaftliches Fundament zu verstärken. Wo aber das Letztere der Fall ist, da bedeutet der Zuwachs keine Gefahr. Dem pharmakologischen Fach droht kein Zerfall, wenn neue Gebiete aus ihm herauswachsen oder sich auf natürliche Weise angliedern — wie denn derselbe Vorgang in vielen anderen Fächern sich ohne Schaden vollzieht und in dieser Hinsicht im Vergleich mit der Pharmakologie kaum grundsätzliche, sondern höchstens quantitative Unterschiede bestehen.

Immerhin wollen die Zuwachsgebiete regiert und mit Nahrung versehen werden, und das erfordert mannigfache Anstrengungen und beharrliche Arbeit, schon wegen der notwendigen Heranziehung immer neuer Methoden aus den verschiedensten Gebieten der Naturwissenschaften. Nicht nur das Isotopenverfahren ist hier zu nennen, sondern auch viel einfachere und gerade deshalb sehr fruchtbare Möglichkeiten der Analyse, unter denen wohl an erster Stelle die Papierchromatographie steht, über die wir bei unserer jetzigen Zusammenkunft von sachkundiger Seite

ebenfalls Näheres hören werden. Um sich dieser neuen Mittel wirksam bedienen zu können, besteht aber auch die Notwendigkeit, sich mit den Begriffen und Denkweisen der naturwissenschaftlichen Gebiete vertraut zu machen, denen die Mittel entstammen, was besonders von dem überwiegend medizinisch vorgebildeten Pharmakologen schon einige Umstellung und Ausdauer verlangt.

Von dem berühmten Göttinger Mathematiker Hilbert wird erzählt, er habe einmal die Bemerkung gemacht: „Die Physik ist viel zu schwer für die Physiker." Wenn das wahr ist, um wieviel mehr ist dann die Pharmakologie viel zu schwer für die Pharmakologen. Wir aber lassen uns nicht entmutigen. Wir sind bereit, zu lernen, was wir benötigen, um das Wissen von der Wirkung der Arzneien vorwärts zu treiben, und wir haben genug jungen Nachwuchs, der zum Lernen gewillt und befähigt ist. Ihn wollen wir vor allem in den vor uns liegenden Arbeitstagen zu Wort kommen lassen. Und wenn nicht alles vollkommen ist, wenn Irrtümer unterlaufen und manche mühevolle Arbeit sich als vergeblich erweist — daran sind wir experimentell tätigen Mediziner nicht weniger gewöhnt als die Naturwissenschaftler. Vielleicht können wir, wo es nötig ist, uns mit dem Wort des schottischen Dichters Stevenson trösten: „Hoffnungsvoll zu reisen ist eine bessere Sache als anzukommen." Natürlich wollen wir alle nicht nur reisen, sondern auch einmal ankommen, aber damit hat es ja auch keine Not. Wenn auch der Einzelne oft genug schmerzlichen Verzicht auf den erwarteten Erfolg leisten muß, wo alle Pharmakologen hoffnungsvoll unterwegs sind, da sind dennoch immer zahlreiche Partialmöglichkeiten des Ankommens vorhanden. Möge das, wie in vielen früheren unserer Kongresse, so auch auf diesem deutlich werden. Ich eröffne die 21. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft.

B. Referate.

R. Domenjoz (Homburg): Pharmakotherapeutische Weiterentwicklung der Antipyretica-Antalgetica.

Mit 3 Textabbildungen.

Die klassische Zeit der Antipyretica war das letzte Viertel des vorigen Jahrhunderts. Damals widmete man sich mit großem Eifer, sowohl auf chemischer als auf medizinischer Seite, dem Studium dieser pharmakologischen Gruppe. Noch aus jener Zeit stammen das Antipyrin, Aminopyrin, Phenacetin und die Acetylsalicylsäure, Präparate, die, gemessen an der Zahl der ärztlichen Verordnungen und an den pro Jahr verbrauchten Mengen, auch heute noch zu den meist verwendeten Arzneimitteln gehören. Die große Epoche, die 1860 mit der Kolbe-Lautemannschen Salicylsäuresynthese begann, fand einen gewissen Abschluß um die Jahrhundertwende, oder genauer genommen im Jahre 1911 mit der Patentanmeldung der Höchster Farbwerke für „Melubrin" und „Novalgin".

Die wesentlichen Daten dieser ersten Entwicklungsphase sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Dabei wurden lediglich die industriell verwerteten Synthesen aufgeführt, die das Material lieferten für die medizinische Bearbeitung. Verzichtet wurde auf die Nennung der wissenschaftlich und vor allem patentmäßig wichtigen sog. Erstbeschreibungen, wie etwa der Salicylsäure aus dem Jahre 1852 von Gerland oder der Acetylsalicylsäure, aus dem Jahre 1859 von Gilm bzw. aus dem Jahre 1853 von Chr. Fr. Gerhardt (1, 2), deren Richtigkeit allerdings angezweifelt wurde. Leider erlaubt es die Zeit nicht, auf die vielen interessanten Einzelheiten aus der Entwicklungsgeschichte der verschiedenen Präparate einzugehen. Besonders hervorgehoben sei jedoch die wirtschaftliche Bedeutung dieser ersten Entwicklungsperiode, in der sich die synthetische Chemie dem Gebiet der Arzneimittel zuwandte, denn aus der Aufgabe der fabrikmäßigen Herstellung der neuen Fiebermittel entstand die deutsche chemisch-pharmazeutische Industrie.

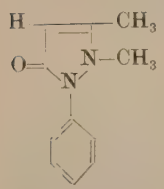
Die nach einer längeren Ruhepause einsetzende Weiterentwicklung verlief gewissermaßen in zwei Dimensionen: In den 30er Jahren wurde die *chemische* Bearbeitung der Antipyretica-Antalgetica neu aufgegriffen: auf der medizinischen Seite vollzog sich eine Wandlung in der *Bewertung* der Antipyretica. Die in den letzten 20 Jahren auf diesem Gebiet investierte chemische Arbeit betrifft fast ausschließlich die Gruppe der Pyrazolabkömmlinge; ich sehe dabei ab von der systematischen Neubearbeitung der Phenylchinolincarbonsäuren am Pharmakologischen Institut der

Tabelle 1.

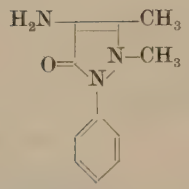
Synthese		Med. Einführung	
1853 Gerhardt:	Acetanilid		
1860 Kolbe:	Salicylsäure		
1874 Kolbe:	indust. Salicylsäure-Synthese		
		1875 Thiersch:	Salicylsäure als chir. Antiseptikum
		1875 Buss:	Salicylsäure innerl.
1882 Fischer, O.:	Kairin	1882 Filehne:	Kairin
1883 Knorr:	Methyloxychinizin = Antipyrin		
		1884 Filehne:	Antipyrin
		1886 Cahn u. Hepp:	Acetanilid = Antifebrin
1887 Knorr:	Antipyrin = Phenyldimethylpyrazolon	1887 Hinsberg u. Kast:	Acetphenetidin
1887 Hinsberg:	Acetphenetidin		
1887 Döbner u. Gieseke:	Phenylchinolincarbonsäure		
1892 Stolz:	Aminopyrin		
		1897 Filehne:	Aminopyrin
1898 Hoffmann, F:	Acetylsalicylsäure		
		1899 Dreser, Wohlgemuth:	Acetylsalicylsäure
		1908 Nicollaier u. Dohrn:	Phenylchinolincarbonsäure
1911 DRP. 254711:	Höchst Melubrin		
1911 DRP. 259577:	Höchst Novalgin		
		1912 Loening:	Melubrin
		1922 Loening u. Auer:	Novalgin

John Hopkins Universität durch Marshall u. Blanchard, die zu dem Versuchspräparat HCP-Lilly (3-Hydroxy-2-phenyl-chinolin-4-carbonsäure) geführt hat, dessen klinische Beurteilung heute jedoch noch nicht abgeschlossen ist. Ein Teil der auf dem Pyrazolgebiet gesammelten Erfahrungen ist in den Publikationen von Stenzl und Mitarbeitern, Buechi und Mitarbeitern, in der Dissertation von Ammann und neuerdings in der Einführungsarbeit für „Osadrin-Knoll" von Haas u. Kraft niedergelegt worden. Die Übersicht (Tab. 2) enthält die wichtigsten Pyrazolverbindungen, geordnet nach dem Datum der Patentschriften, soweit sie als Spezialitäten in den Handel gelangten oder sonst ausführlicher pharmakologisch oder klinisch bearbeitet wurden. In der Reihe der alten Präparate ist das 1896 von Knorr u. Stolz (2) beschriebene, von beiden Autoren aber schon 1890, bzw. 1892 synthetisierte 4-Aminoantipyrin vermerkt. Diese Verbindung hat deutliche antalgetische Eigenschaften, auf die man erst aufmerksam wurde, nachdem bekannt geworden war, daß

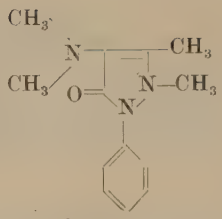
Tabelle 2.



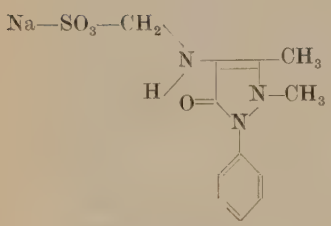
1883 Knorr
Antipyrin-Höchst



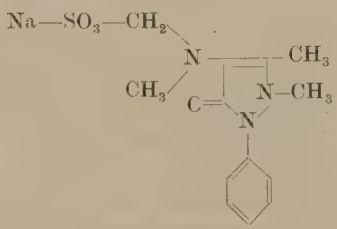
1890/92 Knorr-Stolz
Komp. des Solvapyrin-Strunz



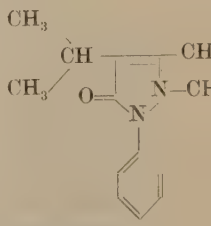
1892 Stolz
Pyramidon-Höchst



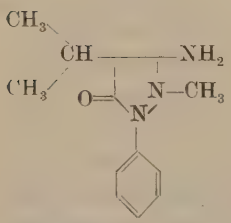
1911 DRP. 254711
Melubrin-Höchst



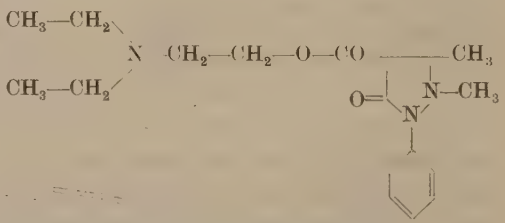
1911 DRP. 259577
Novalgin-Höchst



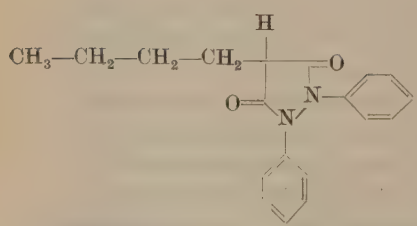
1932 Stenzl
Komp. des Saridon-Hoffmann-LaR.



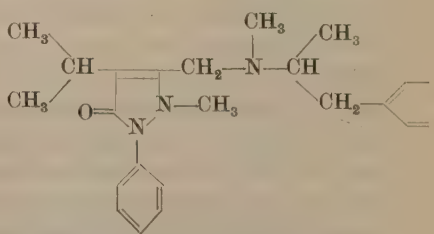
1941 Stenzl
Geigy 808



1942 Kaufmann-Lan Sun Huang
Komp. des Polinal-Boehringer (Mannh.)

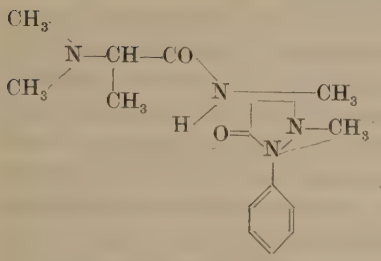


1946 Stenzl
Butazolidin-Geigy
Komp. des Irgapyrin-Geigy

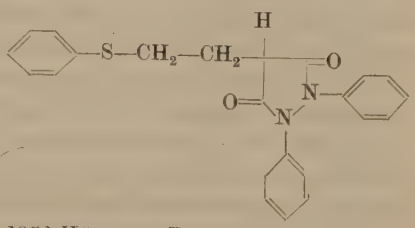


1948 Hofstetter-Somogyi
Komp. des Gewodin-Geistlich

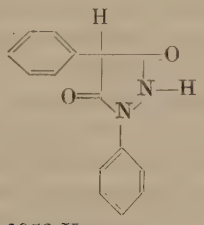
Tabelle 2. (Fortsetzung.)



1952 Takahashi et coll.
Komp. des Ampyro-Fujisawa
Osaka



1952 Häfliger-Pfister
Geigy 25671



1952 Kraft
Komp. des
Osadrin-Knoll

4-Aminoantipyrin als intermediäres Abbauprodukt im Organismus aus Aminopyrin gebildet wird [Halberkann u. Fretwurst; Brodie u. Axelrod (1)]. Neuerdings findet 4-Aminoantipyrin neben Aminopyrin Verwendung in dem injizierbaren Kombinationspräparat Solvapyrin. Das von Stenzl 1932 synthetisierte Isopropylantipyrin ist, analog den Vorstellungen von H. C. Grimm, eine dem Aminopyrin isostere Verbindung. Daß ein Aminostickstoff in einem Molekül durch die Gruppe —CH= ohne Wirkungsänderung ersetzt werden kann, ist von H. C. Grimm selbst an mehreren Beispielen belegt worden. Die Ähnlichkeit der biologischen Wirkungen zwischen Isopropylantipyrin und Aminopyrin, die sich aus Angaben von Fromherz ergibt, spricht für die Richtigkeit dieser Annahme. Ein tatsächlicher Beweis für die zweidimensionale Strukturähnlichkeit wurde von Erlenmeyer u. Willi erbracht, die eine Bildung von Mischkristallen aus Isopropylantipyrin und Aminopyrin nachweisen konnten. Aus ähnlichen Erwägungen wurde G 808 synthetisiert, das analgetisch und antipyretisch gut wirksam ist, das sich aber in seinen physikalischen Eigenschaften von den isosteren Vorbildern deutlich unterscheidet (Stenzl). Der 1942 von Kaufmann u. Lan Sun Huang hergestellte, sog. Pyrazolonester findet heute Verwendung als Komponente des Mischpräparates Polinal-Boehringer, ähnlich wie die 1952 von Takahashi und

Mitarbeitern synthetisierte Verbindung, die in Kombination mit Aminopyrin unter der Bezeichnung „Ampyro" seit kurzem in Japan im Handel ist. In der Pyrazolkomponente des analgetischen Mischpräparates „Gewodin" begegnen wir einem Molekül, in dem gewissermaßen Isopropylantipyrin mit Desoxyephedrin verschmolzen ist. Neben guten antipyretischen und antalgetischen Eigenschaften zeigt die Verbindung am Meerschweinchen im Zitterkäfig bei Dosen von 200—400 mg/kg eine erregende Komponente, wie sie im übrigen auch zahlreichen anderen Pyrazolen zukommt; Sinniger schreibt diese Wirkung wohl zu Unrecht dem Weckamincharakter der Seitenkette in 3-Stellung zu.

Die restlichen 3 Verbindungen der Tabelle unterscheiden sich von den vorhergehenden durch die Gegenwart von 2 Sauerstoffatomen und durch die vollständige Absättigung des Pyrazolringes. Verbindungen dieser Art werden als Pyrazoldione oder Dioxopyrazolidine bezeichnet. Unter den 3,5-Dioxopyrazolidinen sind gegenwärtig 3 Verbindungen bekannt, die besonderes Interesse verdienen. Das von Stenzl im Jahre 1946 synthetisierte 1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-butylpyrazolidin hat Eigenschaften einer Säure, löst sich als Natriumsalz und fällt in pharmakologischer Hinsicht auf durch gute entzündungshemmende Qualitäten. Die von Häfliger u. Pfister synthetisierte Phenylthioäthylverbindung ist nach Wilhelmi u. Currie (4) am Formalinödem der Ratte stärker wirksam als das Stenzlsche Butazolidin, scheint aber am Menschen eine schwächere antirheumatische Wirkung zu besitzen. Nach Brodie und Mitarbeitern (2) soll diese Verbindung, im Gegensatz zu anderen Pyrazolderivaten, keine Wasser- und Salzretention auslösen und durch eine besonders günstige urikosurische Wirkung ausgezeichnet sein. Das vor wenigen Wochen bekannt gewordene 1,4-Diphenyl-3,5-dioxopyrazolidin zeichnet sich nach Haas u. Kraft durch günstige antalgetische, antipyretische und antiphlogistische Eigenschaften aus. Die Verbindung ist als Komponente des „Osadrin-Knoll" im Handel.

Die hier aufgezählten chemischen Neuschöpfungen dürfen kaum als Ursachen, sondern müssen, wenigstens teilweise, als Auswirkungen der Entwicklung angesehen werden, die sich auf seiten der Pharmakologie und Therapie vollzogen hat. Wir rechnen heute zur Gruppe der Antipyretica-Antalgetica das Alkaloid Chinin und eine Reihe synthetischer Verbindungen, Derivate der Salicylsäure, des Pyrazols, des Anilins bzw. p-Aminophenols und der Phenylchinolincarbonsäure. Die für die therapeutische Verwendung dieser Gruppe maßgebenden Eigenschaften entsprechen einer fiebersenkenden, schmerzstillenden und entzündungshemmenden Wirkungskomponente. Die pharmakologische und therapeutische Bewertung dieser drei Haupteigenschaften hat sich im Laufe der Jahre grundlegend gewandelt, in Abhängigkeit von den jeweils herrschenden medizinischen Lehren und Konzep-

tionen. Auch die sog. wissenschaftlichen Tatsachen erscheinen ja jeder neuen Generation in neuem Licht, aber aus psychologischen Gründen zeigen die Tatsachen dem Betrachter, ähnlich wie ein Spiegel, nur seine eigenen Probleme. In unserer Zeit, wo Cortison, ACTH und Stress in den Tageszeitungen erörtert werden, diskutieren wir die Möglichkeit einer hypophysär-adrenalen Wirkung der Antipyretica und stellen die antiphlogistische Komponente in den Vordergrund. Im letzten Viertel des vorigen Jahrhunderts, unter dem Einfluß der Liebermeisterschen Anschauungen über Ursache und physiopathologische Bedeutung des Fiebers, schien die antipyretische Wirksamkeit von besonderer Wichtigkeit.

Der essentielle Inhalt der Weiterentwicklung auf dem Gebiete der Antipyretica-Antalgetica liegt in der Tatsache, daß wir heute die antiinflammatorische Wirkungskomponente im Sinne einer spezifischen und selbständigen pharmakologischen Wirkungsqualität therapeutisch verwerten. Diese Entwicklung ist allerdings, zum mindesten auf der klinischen Seite, noch nicht vollständig vollzogen und eine ganze Reihe ausgezeichneter Internisten in Europa und USA erklärt auch heute noch die günstige Wirkung, etwa der Pyrazole bei den rheumatischen Krankheiten, im Sinne einer antipyretischen und antalgetischen Wirkung, ohne die spezifischen anti-inflammatorischen Fähigkeiten dieser Pharmaka überhaupt zu berücksichtigen. Nimmt man sich die Mühe, die Wandlung in der Betrachtungsweise datenmäßig zu verfolgen, so konstatiert man, daß sie sich über einen sehr großen Zeitraum hinzieht. Wenn wir heute von der entzündungshemmenden Wirkung des Aminopyrins sprechen, so wird dabei meist der Name Eppinger zitiert. Eppinger, Faltitscheck, Kaunitz u. Popper hatten im Jahre 1934 darauf hingewiesen, daß Aminopyrin geeignet sei zur Behandlung der serösen Entzündung, weil es die Exsudation verhindere, offenbar durch eine abdichtende Wirkung an der Gefäßwand. Diese klare Formulierung von der entzündungshemmenden Wirkung des Aminopyrins hat jedoch ihre Vorläufer. Schon 1930 hatte Winternitz-Koranyi aus der Bergmannschen Klinik in Berlin die spezifische antiphlogistische Wirkung des Aminopyrins diskutiert. Sie hatte an der Kantharidenblase festgestellt, daß Aminopyrin die Entzündung sowohl in quantitativer als qualitativer Hinsicht beeinflußt und hatte in ihrer Publikation Bezug genommen auf eine Arbeit aus dem Jahre 1913 von Januschke, einem Mitarbeiter von H. H. Meyer in Wien. Januschke hatte, neben anderen Arzneistoffen, auch mit Antipyrin, salicylsaurem Natrium und Chinin die Senfölchemosis des Kaninchenauges abschwächen können und überlegte damals schon, wie er sich wörtlich ausdrückte, „ob die Salicylwirkung nicht auch beim Gelenkrheumatismus durch elektive Hemmung oder Narkose des peripheren Entzündungsapparates zustande komme". Ähnliche Folgerungen hatten

sich ergeben aus Arbeiten von Starkenstein u. Wiechowski mit Phenylchinolincarbonsäure, deren Resultate ebenfalls im Jahre 1913 veröffentlicht wurden.

Auch das umgekehrte Phänomen, nämlich das allmähliche Ausklingen alter Lehren und Anschauungen zieht sich über viele Jahre hin. Für die heute sehr verbreitete Pyrazoltherapie des Rheumas wird ohne jede Ausnahme, in allen Arbeiten und Prospekten immer Schottmüller (1) als Begründer angeführt, der 1927 die Aminopyrinbehandlung mit großen Dosen einführte. Man vergißt dabei jedoch, daß vorher alle anderen bekannten Pyrazole, ebenfalls in höheren Dosen und bei der gleichen Indikation verwendet wurden, allerdings vielleicht mit bescheideneren Erfolgen. Loening (2), Auer u. Bergmann hatten 1922 in verschiedenen Arbeiten die antirheumatische Wirkung des Metamizol („*Novalgin*-Hoechst") beschrieben. Im Jahre 1912 hatte Loening (1) Amizol („*Melubrin*-Hoechst") empfohlen und schon 1885 hatte sich Bernheim, 1886 Fraenkel und gleichzeitig Gobielsky für die Rheumatherapie mit Antipyrin begeistert, und jeder dieser Autoren hatte sein Präparat als Spezificum gegen Polyarthritis rheumatica bezeichnet. Schon 1887 hatten Raffael Hirsch, 1888 Hess u. Merkel über Rheumabehandlung mit subcutan injiziertem Antipyrin berichtet, und die in unseren Tagen neu erfundene intraartikuläre Therapie war schon im vorigen Jahrhundert von H. Amon geübt worden, der 1889 über gute Erfolge einer Behandlung mit 6 intraartikulären Dosen von je 0,75 g Antipyrin berichtete.

In einer Arbeit aus dem Jahre 1929 geht Schottmüller (2) ausführlich auf die Rheumatherapie ein. Er kommt auf Grund seiner, damals 30jährigen klinischen Erfahrung zu dem Schluß, daß Aminopyrin für die Therapie der Polyarthritis rheumatica vor allen anderen Antipyreticis den Vorzug verdiene, eine Folgerung, die auch heute noch eine gewisse praktische Bedeutung hat. Besonders interessant sind dabei seine Ansichten über den Wirkungsmechanismus dieses Pharmakons, worüber er wörtlich bemerkt: „daß an der spezifisch keimschädigenden Wirkung der genannten Präparate nicht zu zweifeln sei". Diese Ausführungen zeigen deutlich, daß Schottmüller noch keineswegs an eine „anti-inflammatorische Therapie" in unserem Sinne dachte. Seine Konzeption vom Wirkungsmechanismus des Aminopyrins im Sinne eines kausalen, gegen den Krankheitserreger gerichteten Agens entspricht vielmehr noch ganz den Auffassungen, die man im letzten Jahrhundert vom Wesen der antipyretischen Wirkung des Chinins hatte. In den Pharmakologiebüchern der damaligen Zeit wurden die Antipyretica unter dem Kapitel „Antiseptica und fäulniswidrige Stoffe" behandelt. Die fiebersenkende Wirkung des Chinins, auch außerhalb der Indikation Malaria, interpretierte man im Sinne einer chemotherapeutischen, anti-infektiösen Wirkung. In dieser Zeit stellte man z. B. in der Klinik enttäuscht fest, daß der Alkohol,

trotz seiner guten antiseptischen Qualitäten keine fiebersenkenden Eigenschaften besitzt. Auch als KOLBE 1874 auf Grund der schon 1860 entdeckten Synthese aus Phenolnatrium und CO_2 die Salicylsäure der Therapie zugänglich machte, standen zunächst lediglich die antiseptischen Eigenschaften dieses Präparates im Vordergrund. Bezeichnenderweise beschäftigte sich auch zuerst ein Chirurg, THIERSCH in Leipzig, mit der neuen Verbindung, und empfahl auf Grund einer ausführlichen klinischen Untersuchung die konservative Wundbehandlung mit Salicylsäureverbänden, anstelle der bis dahin verwendeten Carbolsäureverbände nach LISTER. In Kenntnis seiner Arbeit und „weil die Salicylsäure als vorzügliches Antisepticum sich auszeichnet" drängte sich C. E. BUSS in St. Gallen der „Gedanke auf, daß dieselbe auch eine antipyretische Wirkung haben müsse". BUSS (1, 2) überprüfte seine Ansicht an zahlreichen klinischen Fällen, wobei ihm „der spezifisch günstige Einfluß von Salicylsäure auf den akuten Gelenkrheumatismus" auffiel, und schrieb noch im Jahre 1875 die erste klinische Arbeit zur innerlichen Anwendung der Salicylsäure.

Trotzdem diese wenigen und lückenhaften Beispiele die Entwicklung, die sich auf dem Gebiet der Antipyretica vollzogen hat, nur andeuten können, zeigen sie doch sehr deutlich, daß die entzündungshemmende Wirkung dieser Pharmaka, im Sinne einer selbständigen pharmakologischen Eigenschaft schon sehr früh diskutiert wurde. Die heutige Betrachtungsweise wurde schon vor rund 40 Jahren zum erstenmal in der Literatur behandelt; sie wurde in der Folge von verschiedenen Autoren auf ihre Berechtigung geprüft, nach und nach mit neuen experimentellen Befunden belegt, bis sie allmählich breitere Anerkennung fand.

Über die antiphlogistischen Eigenschaften der Antipyretica-Antalgetica liegen heute so zahlreiche experimentelle und klinische Erfahrungen vor, daß es im Rahmen eines Übersichtsreferates kaum möglich ist, auf einzelne Autoren und Ergebnisse einzugehen. Eine vergleichende Betrachtung dieser Resultate wird aber durch den Umstand erschwert, daß Untersuchungsmethoden, Tierart, Dosierung und Fragestellung von Arbeit zu Arbeit wechseln. Wir haben aus diesem Grunde in Homburg schon seit längerer Zeit damit begonnen, neben anderen Wirkstoffen auch die wichtigsten Vertreter der Antipyreticagruppe auf ihre antiphlogistischen Eigenschaften unter standardisierten Versuchsbedingungen vergleichend zu untersuchen. In dieser Vergleichbarkeit liegt nach meiner Ansicht der eigentliche Wert, der im folgenden zu besprechenden Resultate, die im einzelnen manches enthalten, was von anderen Autoren schon früher mitgeteilt wurde.

Die Auswertung der entzündungshemmenden Eigenschaften erfolgte an der Rattenpfote, an der sog. Formalinentzündung, am Dextranödem und an der Schwellung, die nach subcutaner Injektion von Hyaluronidase

eintritt. Von der Verwendung der sog. Eiklarhyperergie der Ratte sind wir abgekommen, weil sich die damit gewonnenen Resultate als nicht absolut reproduzierbar erwiesen. Da es sich bei den erwähnten Entzündungsmodellen um heute viel benutzte Untersuchungsmethoden handelt, möchte ich mir erlauben, bezüglich der Besprechung einschlägiger, methodischer Arbeiten auf frühere Publikationen zu verweisen [Domenjoz(1,3)]. Die Priorität für die erstmalige Anwendung dieser Methoden gebührt Selye für die Formalinentzündung, Voorhees, Baker u. Pulaski und Briot u. Halpern für das Dextranödem und Kelemen, Majoros und Mitarbeitern für die Hyaluronidaseschwellung. Für die Interpretation der Resultate ist wichtig, daß unsere Aussagen über anti-inflammatorische Wirkungen lediglich die akute Phase des Entzündungsvorganges betreffen, soweit dieser durch Auftreten einer Schwellung charakterisiert ist. Die Intensität dieser ödematösen Schwellung wurde in allen Versuchen plethysmometrisch gemessen, nach dem gemeinsam mit Wilhelmi publizierten Verfahren [Wilhelmi u. Domenjoz(6)]. Sämtliche Versuche wurden in Numalnarkose (100 mg/kg subc.) durchgeführt, was bei der Bewertung der Ergebnisse ebenfalls zu berücksichtigen ist. Was die Bedeutung der Narkose anbelangt, so verfügen wir über sehr ausgedehnte Erfahrungen von Wilhelmi, über Ödemversuche an nicht narkotisierten Ratten, wobei sich bisher nie ein qualitativer Unterschied zu den Resultaten ergab, die an narkotisierten Tieren gewonnen wurden. Die zeitlichen Verhältnisse unserer Versuchsanordnung sind ersichtlich aus dem in Abb. 1 wiedergegebenen Schema. Beim Hyaluronidaseödem begann die Schwellungsmessung genau 2 min nach Injektion des „Phlogisticums". Die Ausbildung des Ödems wurde genau während 120 min verfolgt und für

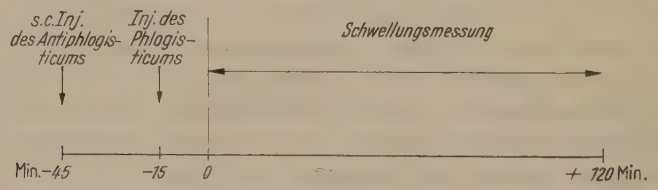


Abb. 1. Zeitliche Anordnung der Entzündungsversuche.

jedes Tier kurvenmäßig festgehalten. Die Endwerte der Schwellungsvolumina wurden in einem Mittelwert zusammengefaßt und nach den üblichen Methoden der Fehlerrechnung verarbeitet. Als Tiermaterial wurden männliche Ratten im mittleren Gewicht von 180 g verwendet, mit Ausnahme der Versuche am Hyaluronidaseödem, die an 150 g schweren Tieren gemacht wurden. Pro Substanz, bzw. pro Dosis wurden mit wenigen Ausnahmen Gruppen von je 20 Tieren eingesetzt. Die von uns gewählte Dosierung der Präparate ist, gemessen an den

beim Menschen verabreichten Dosen, relativ hoch, liegt aber bei allen Substanzen größenordnungsmäßig im gleichen Verhältnis zu den üblichen therapeutischen Tagesgaben. Alle Substanzen, mit Ausnahme der Hormone, wurden 30 min vor der Injektion des entzündungserregenden Agens subcutan injiziert. Cortison wurde in zwei Einzelgaben 120 min vor und gleichzeitig mit, ACTH in 4 Dosen 390, 240, 90 und 30 min vor dem Phlogisticum verabreicht.

Im Zusammenhang mit den erwähnten Methoden zur Untersuchung entzündungshemmender Wirkungen, auf deren Kritik hier nicht eingegangen werden kann, taucht immer wieder die Frage auf, was die erhaltenen Resultate eigentlich bedeuten, in welchem Umfang sie auf klinische Entzündungszustände übertragen werden dürfen usw. — Probleme, die z. T. im Zusammenhang mit der Suche nach neuen antiphlogistischen Stoffen von entscheidender Bedeutung sind. Alle diese Fragen können gegenwärtig weder verneinend noch bejahend beantwortet werden. Wir konstatieren wohl, daß manche Ergebnisse unserer Entzündungsversuche gewissen Erfahrungen der therapeutischen Praxis entsprechen, aber wir dürfen dabei nicht vergessen, daß unsere Auswertungsmethoden sehr vereinfachte Entzündungsmodelle darstellen und, wie im vorliegenden Falle, nur eine einzelne Phase, d. h. einen kleinen Ausschnitt aus der außerordentlich komplexen entzündlichen Reaktion erfassen.

Für die Benennung der Präparate wurden auf unseren Tabellen die sog. „generic names" verwendet. Wo solche Namen noch nicht vorlagen, wie z. B. bei der Spezialität „Novalgin" oder bei der Pyrazolkomponente des „Osadrin-Knoll", haben wir selbst eine Bezeichnung gewählt, was die Herstellerfirmen bitte entschuldigen wollen.

Die am Formalinödem gewonnenen Resultate (Tab. 3) entstammen der Dissertation meines Mitarbeiters Theobald. Ähnlich wie dies auch von anderen Autoren, allerdings z. T. auch bei anderen Entzündungsarten beobachtet wurde [Selye; Coutu; Gross (2); Heilmeyer und Mitarbeiter; Wilhelmi u. Domenjoz (5,6); Ducommun; Wilhelmi (2); Domenjoz (1,2)], führte Cortison in unseren Versuchen zu einer charakteristischen Hemmung des Formalinödems. Die Wirkungsintensität zeigt eine klare Abhängigkeit von der Dosierung und erreicht, bei der allerdings großen Gabe von 2×50 mg/kg, eine Hemmwirkung von 54%. Bei den von uns verwendeten ACTH-Dosen war diese Parallelität zwischen Dosis und Wirkung nicht zu erkennen. Die Ursache für dieses Verhalten ist wahrscheinlich darin zu sehen, daß schon die kleinste verabreichte Menge von $4 \times 2{,}5$ E/kg ACTH genügte, um die in der Nebennierenrinde vorhandenen entzündungshemmenden Steroide quantitativ zur Ausschwemmung zu bringen. Unter den übrigen Vergleichspräparaten ist besonders hervorzuheben Ketobemidon, das in unseren Versuchen, die, wie erwähnt, am narkotisierten Tier vorgenommen wurden, eine ganz erstaunliche anti-inflam-

Tabelle 3. *Formalinödem.*

	Dosis s.c. mg/kg	Schwellung mm³	σ	ε	sign. Diff.	Tier-zahl	Schwellung	Hemmung in %
1. Antipyretica-Antalgetica								
Chininsulfat	50	95	38,63	8,638	10,3	20		64
	50 p. o.	156	51,60	11,540	6,0	20		42
Acetylsalicylsäure	500	140	72,76	16,269	5,9	20		48
p-Aminosalicylsäure	500	203	81,80	18,290	2,8	20		24
Natriumsalicylat	500	240	81,20	18,156	1,2	20		10
Aminopyrin	200	136	42,89	9,589	7,6	20		49
Amizol (Melubrin)	200	237	57,92	12,952	1,6	20		11
Antipyrin	200	258	65,48	14,643	0,4	20		3
	500	232	72,49	16,208	1,6	20		13
Diphenox (Osadrin Komp.)	200	173	68,48	14,943	4,5	21		35
Metamizol (Novalgin)	200	186	71,94	16,086	3,8	20		30
Phenylbutazon (Butazolidin)	100	117	40,15	8,978	8,9	20		56
	200	97	67,77	15,155	8,1	20		64
	200 p. o.	141	61,69	13,796	6,3	20		47
Cinchophen sol. (Atophanyl)	200	177	60,01	13,443	4,7	20		34
	500	135	66,33	14,831	6,4	20		49
2. Vergleichspräparate.								
ACTH (Cibacthen)	4× 2,5 E.	150	61,85	13,830	5,9	20		44
	4× 5 E.	139	31,65	7,078	8,0	20		48
	4×10 E.	139	42,50	9,503	7,4	20		48
Cortison (Cortone-Merck)	2×10	182	77,34	17,294	3,8	20		32
	2×20	161	45,08	10,081	6,0	20		40
	2×50	124	78,27	17,503	6,3	20		54
Ca-Gluconat	500	180	43,06	9,628	5,0	20		33
Diphtherietoxin	1 cm³	253	69,01	14,712	0,7	22		5
INH	50	161	49,52	11,075	5,9	20		40
Ketobemidon (Cliradon)	10	58	45,82	10,260	11,9	20		79
Morphin-HCl	10	168	73,32	16,394	4,6	20		37
Tb 6 (Solvoteben)	50	204	82,97	18,553	2,7	20		24
3. Kontrolltiere		267	64,12	14,337		20		0

matorische Wirkung zeigte. Gross u. Meier (3) hatten schon früher auf diese Wirkungskomponente hingewiesen, auf Grund von Versuchen an der Senfölchemosis des Kaninchens. Weiterhin ist interessant die relativ starke antiphlogistische Wirkung von Isoniazid, die von Spain auch an der Terpentinölentzündung bestätigt wurde, und die möglicherweise auch bei der therapeutischen Verwendung von INH mit zur Geltung kommt [Domenjoz (2)].

Für die Gruppe der Antipyretica ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß einige der geprüften Substanzen stärkere anti-inflammatorische Effekte auslösen, als sie mit Cortison und ACTH erzielt werden können. Besonders in Anbetracht der mit ACTH erhaltenen Werte scheint dieser Befund dafür zu sprechen, daß die Hemmung des Formalinödems durch Antipyretica wahrscheinlich nicht im Sinne einer endogenen Steroidwirkung erklärt werden darf. Unter den einzelnen Resultaten verdient in dieser Hinsicht eine besondere Beachtung die intensive Hemmwirkung von Chininsulfat, welche die früher sehr geschätzte Chinintherapie der Pneumonie in Erinnerung bringt. Wie bereits erwähnt, wurde die antiphlogistische Wirkung des Chinins schon von Winternitz-Koranyi an der Kantharidenblase nachgewiesen. Interessant ist weiterhin die auffallende Verschiedenheit in der Wirkung von Acetylsalicylsäure und Natriumsalicylat, die einen weiteren Beleg dazu liefert, daß die Therapie mit Acetylsalicylsäure nicht nur im Sinne einer Abspaltung von Salicylat erklärt werden darf. Ähnliche experimentelle Resultate über die entzündungshemmenden Eigenschaften der Salicylate wurden von Bacchus u. Bacchus; Gross (1); Kelemen und Mitarbeitern; Wilhelmi (2) und für das Silbernitratödem von Labelle u. Tornaben mitgeteilt. Die schwache Wirkung des Antipyrins am Formalinödem scheint den klinischen Erfahrungen zu entsprechen. An anderen Entzündungsmodellen ist Antipyrin jedoch zuweilen stärker wirksam, so z. T. am Dextranödem, an der Hyaluronidaseschwellung und nach Gross u. Meier auch an der Senfölchemosis des Kaninchens. Unter den übrigen Pyrazolen war am stärksten wirksam das Phenylbutazon [Domenjoz (1, 3)], dann folgen in der Reihenfolge der Wirksamkeit Aminopyrin, Diphenox, Metamizol und Amizol. Unsere Befunde mit Diphenox, die mit dem Na-Salz gewonnen wurden, differieren ganz erheblich von den Resultaten von Haas u. Kraft, was wahrscheinlich auf Unterschiede in der Versuchsanordnung und auf die Verwendung anderer Salze zurückgeführt werden muß. Gleichartige Befunde wurden von Wilhelmi u. Currie (4) mitgeteilt, hingegen konnte Wilhelmi in neueren Experimenten für das Diphenox-diäthylaminoäthanolsalz eine wesentlich bessere Hemmwirkung auf die Formalinentzündung feststellen, als für das Natriumsalz. Die gute anti-inflammatorische Wirkung von Cinchophen steht im Einklang mit früheren Befunden von Starkenstein; Schikorr; Gross (1); Meier, Gross u. Desaulles u. a.

In der Einführungsarbeit des „Osadrin-Knoll" ist von Haas u. Kraft besonders eingehend die Verstärkung der antiphlogistischen Wirkung durch Arzneimittelkombination behandelt worden. Im Rahmen der Antipyretica haben Kombinationswirkungen von jeher eine besondere Wichtigkeit gehabt, ich erinnere nur an das Problem der analgetischen Mischpräparate. Die Frage der gleichzeitigen Wirkung verschiedener Arzneimittel hat in den letzten Jahren einen neuen Aspekt erhalten durch die Beobachtung von sog. Retardeffekten bei antipyretischen und antiphlogistischen Pharmaka und durch die Auffindung spezifischer Potentiatorstoffe wie Carinamid, Probenecid, SKF 525 usw. Mosonyi u. Ducks sahen eine Erhöhung des Penicillinblutspiegels und eine Verlängerung der Wirkungsdauer durch gleichzeitig verabreichtes Aminopyrin; Salzer u. Fischer fanden eine entsprechende Modulation der Veronalwirkung durch Aminopyrin. Wilhelmi(3) konnte durch gleichzeitige Verabreichung von Phenylbutazon die Wirkung von Morphin, Codein und Demerol verstärken und Pulver u. Wilhelmi(2) konnten mit Phenylbutazon die Verweildauer von freier und acetylierter p-Aminosalicylsäure verlängern und den Blutspiegel erhöhen. Eine ähnliche Beeinflussung des Aminopyrinblutspiegels durch Phenylbutazon sahen Pulver(1), sowie Gsell u. Müller.

Mein Mitarbeiter Eckel hat versucht, diese Wirkungskomponente durch die Bestimmung der Verweildauer von Phenolsulfonphthalein im Blut der Ratte zu erfassen. Pro Substanz wurden durchschnittlich 25 männliche Ratten im Gewicht von 300 g verwendet. Die zu untersuchenden Präparate wurden jeweils 150 min vor der Verabreichung des Farbstoffes subcutan injiziert; Phenolsulfonphthalein wurde in einer Dosis von 75 mg/kg intravenös zugeführt. Die von Eckel erhaltenen Resultate sind in Abb. 2 wiedergegeben. Man ersieht daraus, daß mit Ausnahme von Natriumsalicylat alle untersuchten Verbindungen eine deutliche Hemmung der Phenolrotausscheidung verursachen. Diese Wirkung ist am stärksten bei Aminopyrin und, allerdings in höherer Dosierung, bei Cinchophen sol.; Aminopyrin erreichte sogar bei gleicher Dosierung die Wirkungsintensität der Potentiatorstoffe Carinamid und Probenecid [Domenjoz, Eckel u. Theobald(4)].

Die Ausscheidung des Phenolsulfonphthaleins erfolgt bekanntlich ausschließlich über die Tubuli contorti. Eine Beeinflussung der tubulären Funktion, wie sie in unseren Versuchen für die Antipyretica nachgewiesen wurde, dürfte über die Hemmung der Rückresorption auch für die Harnsäureausscheidung von Bedeutung sein. Die günstigen therapeutischen Erfahrungen mit Probenecid, Cinchophen und Phenylbutazon (Yü, Sirota u. Gutman) bei Arthritis urica stehen jedenfalls mit dieser Annahme und mit den Eckelschen Befunden in Einklang.

Die Verzögerung der Phenolrotausscheidung durch Antipyretica und Antiphlogistica ist von Bedeutung im Zusammenhang mit einer Reihe

von Versuchen über die sog. Synovialpermeabilität (Seifter, Baeder u. Begany (1); Seifter, Baeder u. Dervinis (2); Hidalgo u. McClure; Lespagnol u. Thieblot). Diese Autoren haben die renale Farbstoffausscheidung nach intraartikulärer Injektion von Phenolsulfonphthalein zur Beurteilung der synovialen Resorption herangezogen, ohne die Frage der Nierenschwelle zu berücksichtigen — was nach unseren Versuchen nicht zulässig ist [Domenjoz, Eckel u. Theobald (4)]. Der mögliche Retardeffekt

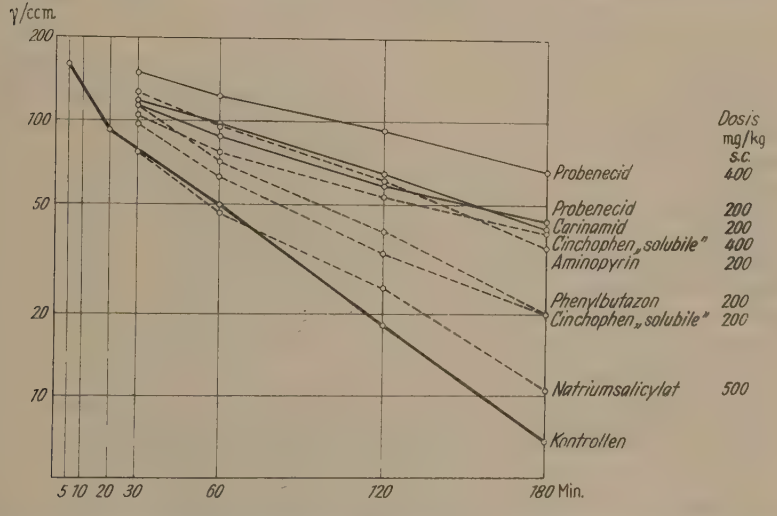


Abb. 2. Einfluß verschiedener Antiphlogistica und Retardmittel auf den Phenolsulfonphthalein-Blutspiegel der Ratte (75 mg/kg Farbstoff i. v., Mittelwertskurven entsprechend einem Tiermaterial von 20—25 Ratten pro Substanz, bzw. pro Dosis).

der Antiphlogistica muß überall dort in Betracht gezogen werden, wo renale Ausscheidungsvorgänge untersucht werden, so z. B. auch bei der Kontrolle der Steroidausscheidung unter der Wirkung eines Antirheumaticums. Für Carinamid konnte z. B. von Bissell und Mitarbeitern und von Ceresa u. Rubino, für Probenecid von Gardner und Mitarbeitern eine charakteristische Hemmung der 17-Ketosteroidausscheidung nachgewiesen werden.

Die Auswertung am Dextranödem und an der Hyaluronidaseschwellung wurde durchgeführt in der Hoffnung, eine Möglichkeit zur Differenzierung der anti-inflammatorischen Wirkung zu finden. Nach den Arbeiten von Halpern u. Briot und von Morrison und Mitarbeitern dürften für die Reaktion der Ratte auf subcutan zugeführtes Dextran im Gegensatz zur Formalinentzündung allergische Vorgänge maßgebend sein. Die in Tab. 4 zusammengefaßten Resultate aus Versuchen von Frank und Theobald zeigen, daß die untersuchten Antipyretica auch das Auftreten des Dextranödems zu hemmen vermögen. Die Aktivität der einzelnen

Präparate ist jedoch z. T. sehr verschieden von der Wirkung auf das Formalinödem. Zunächst erscheint wichtig, daß ACTH bei der Dextranreaktion keine nennenswerte Hemmung zeigt. Bei Cortison fanden wir ebenfalls eine nur mäßige Wirkung und machten weiterhin die Erfahrung,

Tabelle 4. *Dextranödem.*

	Dosis s.c. mg/kg	Schwellung			sign. Diff.	Tierzahl	Hemmung in %
		mm³	σ	ε			
1. Antipyretica-Antalgetica							
Chininsulfat	50	359	142,02	30,992	5,1	21	34
Acetylsalicylsäure	500	340	140,23	31,356	5,6	20	38
p-Aminosalicylsäure	500	451	108,52	25,578	3,0	18	17
Natriumsalicylat	500	256	103,93	18,976	10,7	30	53
Aminopyrin	200	280	147,11	24,184	8,6	37	49
Amizol (Melubrin)	200	501	152,79	34,166	1,1	20	8
Antipyrin	500	363	115,25	21,043	6,4	30	34
Diphenox (Osadrin Komp.)	200	398	151,70	33,920	3,8	20	27
Metamizol (Novalgin)	200	421	126,67	28,325	3,6	20	23
Phenylbutazon (Butazolidin)	200	338	83,18	18,601	7,7	20	38
Cinchophen sol. (Atophanyl)	200	440	116,00	25,938	3,3	20	14
2. Vergleichspräparate							
ACTH (Cibacthen)	4× 5 E.	446	132,48	21,492	3,5	38	18
Cortison (Cortone-Merck)	2×10	339	171,52	27,465	6,2	39	38
	2×20	508	143,41	32,068	1,0	20	7
	2×50	470	193,57	43,284	1,6	20	14
Ca-Gluconat	500	421	136,23	30,461	3,5	20	23
Diphtherietoxin	1 cm³	413	132,06	32,030	3,6	17	24
INH	50	373	153,34	33,462	4,5	21	32
Ketobemidon (Cliradon)	10	517	124,70	27,884	0,9	20	5
Morphin-HCl	10	293	158,81	35,510	6,3	20	46
Tb 6 (Solvoteben)	50	470	139,69	29,108	2,2	23	14
3. Kontrolltiere		546	122,38	19,350		40	0

daß kleinere Dosen wirksamer waren als größere Gaben. Dieses völlig unerwartete Resultat hat sich in zwei Nachprüfungen, die im Abstand von mehreren Monaten durchgeführt wurden, bestätigt. Die Befunde mit ACTH und Cortison sind deshalb wichtig, weil sie zeigen, daß sich die Dextranreaktion qualitativ unterscheidet von der ebenfalls allergisch bedingten Eiklarentzündung, an der sich für beide Hormone eine spezifische antiphlogistische Wirkung nachweisen läßt [Wilhelmi u. Domenjoz (5, 6)]. Auffallend war die gute Hemmwirkung von Natriumsalicylat, die an die Befunde von Swyer erinnert bei histaminbedingten Capillarschädigungen, von Smith u. Humphrey (2) am Arthusschen Phänomen und von Schumacher bei anderen allergischen Reaktionen. Unter den Pyrazolen zeigt Aminopyrin die intensivste Hemmwirkung. Auffallend ist, daß das am Formalinödem stark wirksame Ketobemidon das Auftreten der Dex-

transschwellung nicht verhindert — ein Befund, der sich ebenfalls in einer Nachprüfung bestätigt hat.

Die Ergebnisse am Hyaluronidaseödem, die ich Versuchen von Dewes entnehme (Tab. 5), zeigen ebenfalls Unterschiede zu den schon besprochenen Entzündungsarten. ACTH und Cortison waren beide gut wirksam. Bemerkenswert ist die intensive Wirkung von Calciumglukonat und, allerdings weniger ausgesprochen, die Aktivität von Isoniazid, TbVI und p-Aminosalicylsäure. Acetylsalicylsäure war wirkungslos. In der Pyrazolgruppe fällt neben Aminopyrin, Phenylbutazon und Diphenox das am Formalinödem nur wenig wirksame Antipyrin durch eine gute Hemmwirkung auf. Unsere Erfahrungen mit dem Hyaluronidaseödem sind noch begrenzt und ich möchte aus den vorliegenden Resultaten keine weitergehenden Schlüsse ziehen, außer dem, daß die Hemmung dieser Reaktion nicht unbedingt im Sinne einer Inaktivierung des spezifischen Fermentes gedeutet werden darf. Mein Mitarbeiter Büch hat parallel zu den Ödemtesten die Hyaluronidasehemmung unserer Versuchspräparate im Viskositätstest in vitro gemessen. Hierbei ergab sich mit Ausnahme von Natriumsalicylat, Phenylbutazon und Cinchophen sol. keine spezifische Fermenthemmung. Eine genauere Besprechung dieser Befunde anhand der einschlägigen Literatur muß ich aus Zeitmangel der Originalpublikation vorbehalten. Es ist nach den erwähnten Resultaten wahrscheinlich, daß die in unseren Versuchen gefundene Hemmung des Hyaluronidaseödems zum Teil auf einer unspezifischen Beeinflussung der Ödembildung beruht; die hohe Aktivität des Calciumglukonats deutet nach meiner Meinung darauf hin, daß z. B. schon eine sog. abdichtende Wirkung an der Gefäßwand die Flüssigkeitsverschiebungen abbremsen kann, welche sich im Gewebe aus der fermentativen Zerlegung der Hyaluronsäure ergeben.

Im gleichen Maße als es auf der experimentellen Seite gelang, die entzündungshemmende Komponente der Antipyretica und anderer Pharmaka quantitativ, im Sinne einer selbständigen pharmakologischen Wirkungsqualität zu erfassen, hat man sich darum bemüht, Einblick in den Mechanismus dieser Wirkung zu bekommen. Es kann kein Zweifel darüber bestehen, daß uns die besprochenen Ödem- und Enzündungsteste lediglich eine summarische Aussage ermöglichen über Fehlen oder Vorhandensein einer antiphlogistischen Wirkungskomponente, aber keine Auskunft über die dabei ablaufenden Mechanismen liefern. Dies hängt damit zusammen, daß auch unseren vereinfachten Entzündungsmodellen ein sehr komplexes biologisches Geschehen zugrunde liegt, an dem sowohl physikalisch-chemische als spezifisch biologische Vorgänge fermentativer und cellulärer Art, im Gewebe, am Kreislaufapparat, am Nervensystem und am endokrinen Apparat beteiligt sind.

In den letzten Jahren hat man sich ganz besonders dafür interessiert, ob die antiphlogistische Wirkung mit der Aktivität des Hypophysen-

Tabelle 5. *Hyaluronidaseödem.*

	Dosis s.c. mg/kg	Schwellung mm³	σ	ε	sign. Diff.	Tierzahl	Hemmung in %	% Hyaluronidasehemmung in vitro, Viscositätstest Konzentrationen γ/cm³ 10^2	10^3	5×10^3	10^4	2×10^4
1. Antipyretica-Antalgetica												
Chininsulfat	50	358	116,00	25,938	3,5	20	24	0*	100*			
Acetylsalicylsäure	500	454	120,61	26,970	0,5	20	3				0*	
p-Aminosalicylsäure	500	253	90,20	20,175	8,0	20	46				0*	
Natriumsalicylat	500	359	117,51	26,277	3,5	20	24				0	66
Aminopyrin	200	191	73,78	16,495	11,4	20	59				0	
Amizol (Melubrin)	200	396	143,28	32,038	2,0	20	16					
Antipyrin	200	272	86,79	19,407	7,5	20	42		0		0	0
Diphenox (Osadrin Komp.)	200	275	75,60	16,905	7,9	20	41		0	0*		
Metamizol (Novalgin)	200	321	107,99	24,147	4,9	20	32		0		0	
Phenylbutazon (Butazolidin)	200	185	69,76	15,598	12,0	20	61			0	39	
Cinchophen sol. (Atophanyl)	200	280	91,57	20,475	7,0	20	40			9	75	
2. Vergleichspräparate												
ACTH (Cibacthen)	4× 5 E.	243	106,76	23,873	7,6	20	48					0*
Cortison (Cortone-Merck)	2×10	231	74,49	16,657	9,8	20	51	0	0			
	2×20	313	99,36	22,218	5,5	20	33					
	2×50	342	110,84	24,784	4,2	20	27					
Ca-Gluconat	500	176	118,66	26,534	9,2	20	63				0*	
Diphtherietoxin	1 cm³	414	86,13	19,260	2,1	20	12					0* (0,1 cm³ /1 cm³)
INH	50	279	113,50	25,380	6,1	20	41				0	
Ketobemidon (Cliradon)	10	392	175,37	39,213	1,8	20	17		0			
Morphin-HCl	10	372	135,98	30,406	2,8	20	21		0			
Tb 6 (Solvoteben)	50	286	75,50	16,891	7,5	20	39				13*	
3. Kontrolltiere		470	113,70	17,977		40	0					

*p_H-Änderung! Bedeutung der Befunde fraglich!

Nebennierenapparates zusammenhänge, d. h. ob, primitiv ausgedrückt, die Aminopyrinwirkung bei Rheuma einer endogenen Cortisontherapie entspreche. Eine sehr ausgedehnte Literatur zu dieser Frage liegt für die Gruppe der Salicylate vor: 1949: Calesnick u. R. Beutner; 1950: Kelemen, Majoros und Mitarbeiter; Pasqualini (1); Cochran, Watson u. Reid; Robinson (1); Pfeiffer u. Lee (1, 2); 1951: Robinson (2); Pasqualini (2) und Mitarbeiter; Champy u. Demay (1, 2); van Cauwenberge u. Heusghem (1,2); Roskam und Mitarbeiter. Für Aminopyrin wurde eine adrenohypophysäre Wirkung angenommen von Pfeiffer u. Lee (1, 2) und von Kuzell (1, 2) und Mitarbeitern, für Antipyrin von Pfeiffer u. Hasegawa (3), für Irgapyrin von Fellinger und Mitarbeitern, für Phenylbutazon von Agolini und Mitarbeitern und von Bazzi und Mitarbeiter. Von Blanchard, Dearborn u. Mitarbeitern wurde für Phenylchinolincarbonsäurederivate eine hypophysär bedingte Depletionswirkung auf die Nebennieren festgestellt. Von Schuler u. Meier wurde für eine Reihe von Thiosemicarbazonderivaten eine durch die Hypophyse vermittelte Rückwirkung auf das Gewicht und den Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere festgestellt und im Sinne eines „ACTH-Effektes" gedeutet. Es ist im Rahmen dieses Referates nicht möglich, ausführlich auf die hierüber vorliegende Literatur einzugehen — es ist heute auch schon schwierig, ein Pharmakon zu finden, dessen Wirkung noch nicht im Sinne eines hypophysär-adrenalen Mechanismus zu erklären versucht wurde.

Für den Fall der Antipyretica und Antiphlogistica stützen sich diese hypothetischen Annahmen z. T. auf die Analogien mit den klinischen Wirkungen und Nebenwirkungen von Cortison und ACTH, wie sie z. B. von Hailman für die Salicylate zusammengestellt worden sind. Als Beweise werden fernerhin angeführt, die Eosinophilenreaktion nach Thorn, die Steroidausscheidung und, wohl am häufigsten, die Ascorbinsäure- und Cholesterindepletion der Nebenniere. Für den besonderen Fall der Salicylate ist neuerdings von Coste (1) und Mitarbeitern auf die Fragwürdigkeit dieser Beweismittel hingewiesen worden. Nach Coste (1) und Mitarbeitern sind die Ähnlichkeiten in der klinischen Wirkung der Salicylate und des Cortisons durchaus nicht überzeugend und vor allem nur in einzelnen Fällen vorhanden. Von Smith (1) wurde darauf hingewiesen, daß beide Pharmaka auch gegensätzliche Wirkungskomponenten besitzen, wie sich z. B. an der Beeinflussung des Leberglykogens nachweisen läßt, wo Cortison zu Vermehrung, Salicylat aber zu Glykogenverarmung führt. Der Eosinophilentest ist in seiner biologischen Bedeutung noch völlig unklar und die damit erhaltenen Resultate sind aus technischen und statistischen Gründen fragwürdig. Die Bestimmung der 11-Oxysteroide nach den üblichen Reduktionsmethoden ermöglicht nach Coste (1, 3) und Mitarbeitern keine Aussagen über die Menge der

freigesetzten Steroide mit antiphlogistischer bzw. cortisonähnlicher Wirkung.

Hinsichtlich der Cholesterin- und Ascorbinsäureausscheidung aus der Nebenniere unter der Wirkung anti-inflammatorischer Pharmaka lassen sich aus Versuchen meiner Mitarbeiter Braun und Schulz interessante Rückschlüsse ziehen. Die in Tab. 6 aufgeführten Mittelwerte entsprechen Versuchsgruppen von je 20 weiblichen, nicht narkotisierten Ratten im mittleren Gewicht von 200 g. Der Ascorbinsäuregehalt wurde nach Roe u. Kuether bestimmt, Cholesterin nach Schoenheimer u. Sperry. Die Versuche waren so angeordnet, daß bei gleicher Dosierung der Präparate der Zustand der Nebennieren zu dem Zeitpunkt erfaßt wurde, der dem Endwert unserer Entzündungsversuche entspricht.

Aus den Resultaten ergibt sich, daß alle untersuchten Produkte, mit Ausnahme des Cortisons, eine mehr oder weniger starke Cholesterin- und Ascorbinsäureverarmung der Nebenniere auslösen, ohne daß eine Korrelation zu erkennen wäre zur Intensität der antiphlogistischen Wirkung. Wir haben dieses wichtige Phänomen weiteruntersucht, besonders deshalb, weil die vorliegenden, an nicht narkotisierten Tieren gewonnenen Resultate nicht ohne weiteres mit den Ergebnissen unserer Entzündungsversuche verglichen werden können. Meine Mitarbeiter Fehres, Mörsdorf, Theobald und Stenger haben sich der Mühe unterzogen, die Entzündungshemmung am Formalinödem und die Bestimmung der Depletionswirkung an gleichen Versuchstieren nach Hypophysektomie durchzuführen.

Die Hypophysektomie wurde parapharyngeal bei männlichen Ratten im mittleren Gewicht von 100 g in Äthernarkose durchgeführt. Der Entzündungsversuch folgte genau 48 Std nach der Operation; unmittelbar danach wurden die Nebennieren präpariert und analytisch verarbeitet. Der Entzündungsversuch wurde pro Substanz bzw. pro Dosis an Gruppen von je 20—60 Tieren durchgeführt, aus technischen Gründen konnte aber die analytische Bestimmung nicht auf die ganze Tiergruppe ausgedehnt werden. Die in diesen Versuchen gewonnenen Resultate (Tab. 7) sind in verschiedener Hinsicht von Bedeutung. Wenn wir zunächst die entzündungshemmende Wirkung beiseite lassen und nur den sog. Depletionseffekt am hypophysenlosen und am normalen Tier vergleichen, so konstatieren wir, daß mit der Exstirpation der Hypophyse für alle untersuchten Produkte die Depletionswirkung praktisch völlig verschwindet, eine Tatsache, die für einzelne der untersuchten Produkte schon aus anderen Arbeiten bekannt ist. Die bei Acetylsalicylsäure und Natriumsalicylat erhaltenen Resultate weisen zwar nach unseren Berechnungen noch signifikante Differenzen von über 3,3 aus, doch möchte ich mich hier nicht absolut auf die Fehlerrechnung verlassen. Immerhin muß ich aber darauf hinweisen, daß z. B. Coste, Bourel u. Delbarre (1, 2) unter ähnlichen

Tabelle 6. *Nebennieren-Depletion.*

Ascorbinsäure γ/mg 1 2 3 4	%	γ/mg	σ ±	ε ±	Präparat	Dosis s.c. mg/kg	Cholesterin γ/mg 10 20 30 40	%	γ/mg	σ ±	ε ±
		3,75	0,84	0,11	Kontrolle	—			36,4	12,8	1,87
	—58	1,57	0,31	0,11	Acetylsalicylsäure	500		—40	21,7	6,0	2,10
	—37	2,38	0,32	0,08	ACTH-Ciba	4×2,5 E./kg		— 3	35,3	9,0	3,20
	—57	1,63	0,29	0,07		4×5 E./kg		—38	22,5	8,3	2,08
	—65	1,32	0,21	0,08		4×10 E./kg		—65	12,8	4,2	1,47
	—56	1,66	0,30	0,11	Aminopyrin	200		—28	26,3	6,7	2,40
	—42	2,18	0,60	0,21	Amizol	200		—21	28,9	9,7	3,40
	—48	1,96	0,41	0,10	Antipyrin	200		—48	19,1	10,9	2,74
	—29	2,65	0,30	0,11	Ca-Gluconat	500		—30	25,6	8,5	3,00
	—38	2,34	0,87	0,31	Chininsulfat	50		—37	22,8	8,5	3,01
	—40	2,26	0,26	0,09	Cinchophen-sol.	200		—21	28,8	10,7	3,80
	+ 8	3,48	0,44	0,16	Cortison	2×10		—17	30,1	5,0	1,80
	+ 9	4,08	0,27	0,10		2×20		—15	30,8	4,0	1,40
	+10	4,12	0,38	0,14		2×50		—34	24,2	8,4	3,00
	—26	2,79	0,47	0,17	INH	50		—31	25,1	6,9	2,40
	—25	2,83	0,38	0,14	Ketobemidon	10		—49	18,5	5,7	2,00
	—48	1,95	0,30	0,11	Metamizol	200		—45	20,1	6,3	2,20
	—16	3,15	0,43	0,15	Morphin-HCl	10		—20	29,3	8,5	3,00
	—63	1,39	0,28	0,07	Na-Salicylicum	500		—35	23,7	8,3	2,06
	—33	2,53	0,40	0,10	PAS	200		—28	26,1	5,0	1,80
	—39	2,29	0,37	0,13		500		—42	21,1	9,8	3,50
	—55	1,70	0,26	0,07	Phenylbutazon	200		—22	28,5	9,3	2,32
	—32	2,56	0,42	0,15	Tb 6	50		—45	19,9	5,8	2,10

Tabelle 7. *Nebennieren-Depletion.*

	Dosis s.c. mg/kg	Änderung in %			
		normal		Hypophysektomie	
		Ascorbinsäure	Cholesterin	Ascorbinsäure	Cholesterin
2. Antipyretica-Antalgetica					
Chininsulfat	50	— 38	— 37	+ 1	0
Acetylsalicylsäure	500	— 58	— 40	— 16	+ 7
p-Aminosalicylsäure	500	— 39	— 42	+ 2	+ 9
Natriumsalicylat	500	— 63	— 35	— 13	— 1
Aminopyrin	200	— 56	— 28	+ 5	+ 5
Antipyrin	200	— 48	— 48	— 3	+ 5
Diphenox (Osadrin Komp.)	200			+ 4	+ 7
Metamizol (Novalgin)	200	— 48	— 45	— 3	+ 1
Phenylbutazon (Butazolidin)	200	— 55	— 22	+ 11	— 2
Cinchophen sol. (Atophanyl)	200	— 40	— 21	+ 5	+ 3
1. Vergleichspräparate					
ACTH (Cibacthen)	4× 2,5 E.	— 37	— 3	— 24	— 14
	4×10 E.	— 65	— 65	— 44	— 39
Cortison (Cortone-Merck)	2×10	— 7	— 17	+ 12	— 8
	2×50	+ 10		+ 5	0
Ca-Gluconat	500	— 29	— 30	— 1	— 1
INH	50	— 26	— 31	+ 1	+ 3
Ketobemidon (Cliradon)	10	— 25	— 49	+ 12	— 8
Morphin-HCl	10	— 16	— 20	+ 6	— 1
Tb 6 (Solvoteben)	50	— 32	— 45	— 4	+ 4

Versuchsbedingungen am hypophysektomierten Tier eine Ascorbinsäuredepletion von 16% fanden und daraus auf eine direkte corticotrope Wirkung der Salicylate schließen. Es scheint mir berechtigt, aus unseren Resultaten den Schluß zu ziehen, daß alle untersuchten Antipyretica via Hypophyse eine Wirkung auf die Nebenniere ausüben. An diese Feststellung schließt sich die Frage nach der Bedeutung dieses Befundes. In der Literatur wird ganz allgemein angenommen, daß Änderungen im Ascorbinsäure- und Cholesteringehalt der Nebenniere durch die inkretorische Aktivität dieses Organs bedingt seien; diese Annahme basiert noch auf älteren Arbeiten von Giroud, Martinet u. Bellon (1) und von Giroud, Santa und Mitarbeitern (2) über die Bedeutung der Ascorbinsäure für die Bildung des Rindenhormons und auf der Annahme, daß das in der Nebenniere vorhandene Cholesterin als Präcursor der Corticosteroide anzusehen sei. Nach diesen Hypothesen wären Abnahmen im Ascorbinsäure- und Cholesteringehalt der Nebenniere im Sinne eines Verbrauches dieser Stoffe für die Steroidsynthese zu deuten, eine Annahme, die in Kenntnis der hohen Wirksamkeit mancher Steroide eher fragwürdig erscheint.

Für die uns interessierenden Antipyretica bleibt somit abzuklären, ob eine Korrelation zwischen Depletionseffekt und antiphlogistischer Wir-

kung besteht (Tab. 8). Hinsichtlich der entzündungshemmenden Wirkung ergab sich zunächst der überraschende Befund, daß die Hypophysektomie die antiphlogistischen Eigenschaften der geprüften Antipyretici in keiner Weise abschwächt. In einigen Fällen, so z. B. bei Acetylsalicylsäure, p-Aminosalicylsäure, Aminopyrin und TbVI war sogar ein signifikanter Wirkungszuwachs festzustellen. Aus diesen Resultaten ist zu folgern, daß die entzündungshemmende Wirkung der untersuchten Antipyretica, mit Sicherheit nicht durch eine Freisetzung von ACTH aus der Hypophyse bedingt sein kann. Ein sonderbares Resultat dieser Versuchsreihe möchte ich noch besonders hervorheben: ACTH war bei den hypophysenlosen Ratten in gleicher Dosierung erheblich schwächer wirksam als am Normaltier, und Cortison war praktisch wirkungslos! Wie mir Herr SELYE vor 14 Tagen in einer persönlichen Diskussion mitteilte, sind ähnliche Befunde, die sich in das übliche Schema nicht einfügen, vor kurzem auch in seinem Institut erhoben worden.

Aus der Feststellung einer, nicht an die Mitwirkung der Hypophyse gebundenen antiphlogistischen Eigenschaft ergibt sich, daß die adrenotrope Wirkung der Antipyretica, soweit sie als Depletionseffekt am normalen Tier erfaßt wird, keine Beziehung haben kann zum anti-inflamma-

Tabelle 8. *Formalinödem, Hypophysektomie.*

	Dosis s.c. mg/kg	Schwellung			sign. Diff.	Tierzahl	Hemmung in %
		mm³	σ	s			
1. Antipyretica-Antalgetica							
Chininsulfat	50	92	61,22	9,127	6,7	45	47
Acetylsalicylsäure	500	51	52,66	8,657	10,5	37	70
p-Aminosalicylsäure	500	101	54,67	9,241	5,9	35	41
Natriumsalicylat	500	163	60,37	10,508	0,7	33	5
Aminopyrin	200	44	29,79	5,440	13,6	30	74
Antipyrin	200	147	59,80	9,016	2,1	44	15
Diphenox (Osadrin Komp.) .	200	95	50,08	11,198	5,7	20	45
Metamizol (Novalgin) . . .	200	130	68,91	10,389	3,3	44	24
Phenylbutazon (Butazolidin)	200	65	45,62	7,401	10,1	38	62
Cinchophen sol. (Atophanyl)	200	62	59,26	8,935	9,4	44	64
2. Vergleichspräparate							
ACTH (Cibacthen)	4× 2,5 E.	140	59,29	9,042	2,7	43	19
	4×10 E.	157	68,71	10,602	1,1	42	9
Cortison (Cortone-Merck) . .	2×10	186	73,67	13,922	0,9	28	—8
	2×50	162	78,28	11,937	0,6	43	6
Ca-Gluconat	500	114	74,71	9,895	4,0	55	34
Diphtherietoxin	1 cm³	141	46,38	7,427	2,9	39	18
INH	50	105	76,85	13,378	4,3	33	39
Ketobemidon (Cliradon) . .	10	57	51,11	9,333	9,5	30	67
Morphin-HCl	10	114	59,04	9,004	4,9	43	34
Tb 6 (Solvoteben)	50	76	51,07	9,483	7,9	29	56
3. Kontrolltiere		172	58,73	7,646		59	0

torischen Mechanismus dieser Substanzen. Die biologische Bedeutung dieses Effektes, der vielleicht im Zusammenhang mit gewissen Nebenwirkungen wichtig ist, bleibt vorläufig völlig unklar. Wir können aus unseren Resultaten die wichtige allgemeine Folgerung ziehen, daß der Ascorbinsäure- und Cholesteringehalt der Nebenniere keine Beurteilung des Aktivitätsgrades der Nebennierenrinde ermöglicht. Sogar für den Fall des ACTH zeigen unsere Ergebnisse, daß der Depletionseffekt der anti-inflammatorischen Wirkung nicht kongruent ist; schon unsere Versuche am Normaltier ließen erkennen, daß zwischen Depletionseffekt und anti-inflammatorischer Wirkungskomponente offenbar keine Korrelation besteht. Nach meiner Ansicht können diese Befunde, die wir schon vor etwa 2 Jahren erhoben haben, nur durch die Annahme befriedigend erklärt werden, daß Steroidausschwemmung und Depletionseffekt durch verschiedene Mediatoren bewerkstelligt werden. Offenbar können diese Mediatoren von der Hypophyse auch sozusagen „einzeln" abgegeben werden, wie dies unter dem Einfluß der Antipyretica zutrifft. Es kann an dieser Stelle nicht auf die Frage der Einheitlichkeit des adreno-corticotropen Prinzips eingegangen werden (Übersicht bei Pincus u. Elmadjian), die gegenwärtig mehr und mehr angezweifelt wird. Schon heute läßt sich jedenfalls sagen, daß die Auswertung von ACTH nach dem sog. Sayers-Test, d. h. auf Grund der Depletionswirkung, der klinischen Wirkung der ACTH-Präparate nicht adäquat ist. In diesem Zusammenhang ist auch die Frage erlaubt, ob die beiden biologisch doch sehr verschiedenen Phänomene der Cholesterinausschwemmung und der Ascorbinsäuredepletion überhaupt durch den gleichen Wirkstoff ausgelöst werden.

Die Annahme einer differenzierenden Arbeit der Hypophyse scheint vor allem aus teleologischen Gründen berechtigt. Wir wissen, daß die Nebennierenrinde eine Vielzahl von Steroiden mit z. T. sehr verschiedenartigen Wirkungen produzieren kann. Die Nebennierenrinde bietet damit alle Voraussetzungen für eine differenzierte, den jeweiligen Bedürfnissen angepaßte Leistung. Die heute so viel gebrauchten Bezeichnungen „Stress" und „Nebennierenrindenstimulation" entsprechen andrerseits einer sehr groben Schematisierung, die den physiologischen Verhältnissen zweifellos in keiner Weise entspricht und vor allem die Möglichkeit einer modulierenden Beeinflussung der Nebennierenrindenfunktion überhaupt nicht berücksichtigt.

Im Zusammenhang mit den besprochenen Befunden haben wir uns die Frage vorgelegt, in welcher Weise sich andere Organe an dem Depletionsphänomen beteiligen, das in den Nebennieren abläuft. Die Herren Mörsdorf u. Stenger haben daraufhin Cholesterin- und Ascorbinsäurebestimmungen gleichzeitig in Herz, Leber, Lunge, Niere und Nebennieren durchgeführt. Hierbei ergab sich, daß die von der Hypophyse gesteuerte Cholesterinausschwemmung in spezifischer Weise nur die Nebenniere be-

trifft, ohne daß in anderen Organen nennenswerte Änderungen eintreten. Das Ergebnis hinsichtlich Ascorbinsäure war weniger einheitlich (Abb. 3). Auch hier steht zunächst die Ausschwemmung aus der Nebenniere im Vordergrund. Parallel zu diesem Depletionseffekt konstatiert man jedoch auch in den übrigen Organen Änderungen in ihrem Ascorbinsäuregehalt. Diese Änderungen liegen für ACTH zweifellos noch an der Grenze einer signifikanten Reaktion. Bei Cortison ergibt sich eine mehr oder weniger

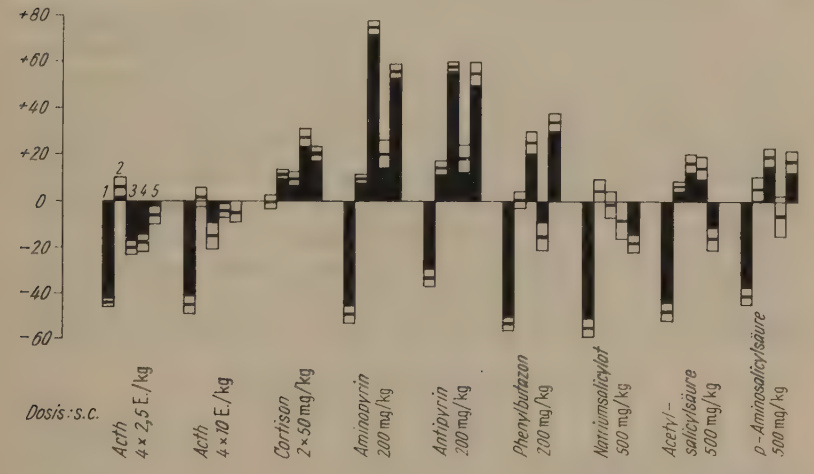


Abb. 3. Wirkung von ACTH, Cortison und verschiedenen Antiphlogisticis auf den Ascorbinsäuregehalt einzelner Organe der Ratte. [Angaben in % der Normalwerte von Nebennieren (1), Herz (2), Leber (3), Lunge (4) und Niere (5); Mittelwerte aus Tiergruppen von mindestens 16 Ratten pro Substanz bzw. pro Dosis. Mittleres Tiergewicht = 150 g.]

deutliche Zunahme in allen untersuchten Geweben. Auffallende Anreicherungen, die besonders Leber und Niere betreffen, finden sich bei den Pyrazolen Aminopyrin und Antipyrin, während die Salicylate, vor allem Natriumsalicylat wesentlich geringere Reaktionen auslösen. Die biologische Bedeutung dieser Befunde, die vielleicht nur sekundäre Umlagerungsprozesse betreffen, kann hier nicht diskutiert werden. Es bleibt auch noch abzuklären, ob es sich hierbei überhaupt um Reaktionen handelt, die mit der spezifischen Depletionsreaktion der Nebenniere gekoppelt sind. Im Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus der Antipyretica schien es mir aber von Wichtigkeit, auf die auch in diesen Experimenten zutagetretenden qualitativen Unterschiede hinzuweisen, die zwischen ACTH und den antipyretischen Pharmaka bestehen.

Wenn wir zu unseren antiphlogistischen Stoffen zurückkehren, so können wir resumieren, daß sie über die Hypophyse auf die Nebenniere wirken und dort Veränderungen auslösen, welche denjenigen ähnlich sind, die nach Verabreichung von adrenocorticotropem Hormon auftreten.

Diese Ähnlichkeit ist jedoch nur partiell und betrifft eine Wirkungskomponente des adrenocorticotropen Hormons, die aber mit dem therapeutisch verwerteten Prinzip nicht identisch ist. Die entzündungshemmenden Eigenschaften der Antipyretica sind zweifellos nicht durch eine Beteiligung der Hypophyse — im Sinne einer Nebennierenrindenaktivierung — bedingt, denn auch nach Exstirpation des Organs bleibt diese Wirksamkeit voll erhalten.

Bei der weiteren Analyse des Wirkungsmechanismus bleibt abzuklären, ob die Nebennierenrinde vielleicht ohne die Mitwirkung der Hypophyse an der Entzündungshemmung durch Antipyretica beteiligt ist. In diesem Zusammenhang sind zunächst zwei Möglichkeiten zu berücksichtigen. Eine vermehrte Ausschüttung cortisonähnlicher, anti-inflammatorischer Wirkstoffe könnte durch eine primäre Einwirkung auf die Nebennierenrinde zustande kommen. Andrerseits könnte eine Aktivitätssteigerung der Nebennierenrinde durch andere — extrahypophysäre Relaisstationen mit adrenotropen Funktionen bedingt sein.

Meine Mitarbeiter Fehres und Theobald haben versucht, die erste dieser Fragen im Entzündungsversuch an der nebennierenlosen Ratte abzuklären. In diesen Experimenten ergab sich ausnahmslos für alle

Tabelle 9. *Formalinödem, Adrenalektomie.*

	Dosis s.c. mg/kg	Schwellung			sign. Diff.	Tierzahl	Hemmung in %
		mm³	σ	ε			
1. Antipyretica-Antalgetica							
Chininsulfat	50	251	47,64	10,652	0,8	20	— 5
Acetylsalicylsäure	500	223	65,28	14,597	0,8	20	6
p-Aminosalicylsäure	500	272	83,85	18,748	1,5	20	—14
Natriumsalicylat	500	278	68,95	15,417	2,0	20	—17
Aminopyrin	200	207	73,53	11,626	1,8	40	13
Antipyrin	200	235	53,25	11,907	0,2	20	1
Diphenox (Osadrin Komp.)	200	188	70,65	14,420	2,6	24	21
Metamizol (Novalgin)	200	238	61,31	13,709	0	20	0
Phenylbutazon (Butazolidin)	100	231	77,99	15,598	0,3	25	3
	200	137	55,18	8,725	6,6	40	42
Cinchophen sol. (Atophanyl)	200	181	45,39	10,150	3,5	20	24
2. Vergleichspräparate							
ACTH (Cibacthen)	4× 2,5 E.	230	91,75	14,507	0,4	40	3
Cortison (Cortone-Merck)	2×10	191	50,29	10,247	2,9	24	20
	2×50	158	63,35	13,209	4,4	23	34
Ca-Gluconat	500	210	58,86	13,161	1,5	20	12
Diphtherietoxin	1 cm³	250	53,44	11,948	0,7	20	— 5
INH	50	228	80,68	18,041	0,5	20	4
Ketobemidon (Cliradon)	10	172	46,61	10,421	4,0	20	28
Morphin-HCl	10	220	69,94	15,640	0,9	20	8
Tb 6 (Solvoteben)	50	193	90,21	20,172	1,9	20	19
3. Kontrolltiere		238	56,79	12,699		20	0

untersuchten Stoffe eine einwandfreie Abnahme der antiphlogistischen Wirksamkeit (Tab. 9), die bei den einzelnen Präparaten verschiedene Ausmaße erreicht. Die Tatsache, daß durch die Adrenalektomie auch die Wirkung des Cortisons wesentlich abgeschwächt wird, weist darauf hin, daß wir bei der Bewertung dieser Resultate vielleicht eine Art Korrekturfaktor anbringen müssen. Die Spezifität derartiger Versuche leidet zweifellos darunter, daß gleichzeitig zwei verschiedene inkretorische Organe entfernt werden. Chininsulfat verliert am nebennierenlosen Tier seine entzündungshemmende Eigenschaft völlig — im Gegenteil, es scheint ohne Nebenniere genau wie p-Aminosalicylsäure und Natriumsalicylat sogar in prophlogistischer Weise zu wirken. Acetylsalicylsäure wird ebenfalls wirkungslos. Die Pyrazole erfahren eine mehr oder weniger starke Abschwächung, ebenso die Phenylchinolincarbonsäure. Das Ausmaß dieser Abschwächung liegt bei Phenylbutazon, Diphenox und bei der Phenylchinolincarbonsäure in einem ähnlichen Verhältnis wie bei Cortison und beträgt nur etwa 30% der Aktivität am Normaltier, während bei Aminopyrin ein wesentlich stärkerer Ausfall vorliegt; Antipyrin und Metamizol werden ganz wirkungslos. Während die Ausschaltung der Hypophyse die Entzündungshemmung durch die untersuchten Antipyretica scheinbar nicht beeinflußt, ermöglicht die Adrenalektomie eine Differenzierung, die

Tabelle 10. *Formalinödem.*

	Dosis s.c. mg/kg	Hemmung in %		
		normal	Hypophysektomie	Adrenalektomie
1. Antipyretica-Antalgetica				
Chininsulfat	50	64	47	— 5
Acetylsalicylsäure	500	48	70	6
p-Aminosalicylsäure	500	24	41	—14
Natriumsalicylat	500	10	5	—17
Aminopyrin	200	49	74	13
Antipyrin	200	3	15	1
Diphenox (Osadrin Komp.)	200	35	45	21
Metamizol (Novalgin)	200	30	24	0
Phenylbutazon (Butazolidin)	200	64	62	42
Cinchophen sol. (Atophanyl)	200	34	64	24
2. Vergleichspräparate				
ACTH (Cibacthen)	4× 2,5 E.	44	19	3
Cortison (Cortone-Merck)	2×10	32	—8	20
	2×50	54	6	34
Ca-Gluconat	500	33	34	12
Diphtherietoxin	1 cm³	5	18	— 5
INH	50	40	39	4
Ketobemidon (Cliradon)	10	79	67	28
Morphin-HCl	10	37	34	8
Tb 6 (Solvoteben)	50	24	56	19

vielleicht auch eine gewisse therapeutische Bedeutung besitzt (Tab. 10). Man könnte auf Grund der Ergebnisse am adrenalektomierten Tier die Antiphlogistica aus der Gruppe der Antipyretica einteilen in solche Pharmaka, deren entzündungshemmende Wirkung die Gegenwart der Nebenniere zur Voraussetzung hat: wie z. B. Chinin und die Salicylate, und in eine zweite Gruppe, deren Wirkung, wenn überhaupt, nur partiell vom Vorhandensein — in der Praxis müßte es lauten — vom Funktionszustand der Nebenniere abhängig ist.

Ich bin damit am Ende meiner Ausführungen angelangt und möchte um Entschuldigung bitten, daß ich mein Thema nur mit Streiflichtern und auch nicht von allen Seiten beleuchtet habe und vor allem, daß in meinem Referat eigene Befunde in den Vordergrund gestellt wurden. Auf die Besprechung einiger wichtiger Fragen, wie etwa der Nebenwirkungen, mußte aus zeitlichen Gründen ganz verzichtet werden. Gar nicht berührt wurden die physiologisch-chemischen Aspekte des Entzündungsproblems und insbesondere die peripheren, gewebseigenen Mechanismen, die für das Zustandekommen und zweifellos auch für die pharmakologische Beeinflussung der Entzündung verantwortlich sind. Es liegen heute schon zahlreiche Einzelergebnisse vor, z. B. über die Reaktion des Kohlenhydratstoffwechsels auf Traumen verschiedenster Art, über seine Beteiligung am Entzündungsvorgang selbst und auch über die Beeinflussung bestimmter Fermentsysteme durch antiphlogistische Stoffe. Es ist zu hoffen, daß uns die physiologisch-chemisch orientierte Pharmakologie die heute noch wenig erforschten Vorgänge erschließen wird, die im Bereich des Entzündungsherdes ablaufen.

Literatur.

Agolini, G., A. Bertelli e G. Cavacchini: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **28**, 1761 (1952). — Ammann, J. U.: Diss. Nr. 2124 ETH. Zürich. — Amon, H.: Internat. klin. Rundschau **1889**, Nr. 3; ref. Zbl. klin. Med. **10**, 375 (1889). — Auer, A.: Dtsch. med. Wschr. **48**, 91 (1922). — Bacchus, H., and A. Bacchus: Federat. Proc. **12**, 7 (1953). — Bazzi, U., e F. Giangrasso: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **29**, fasc. 4 (1953). — Bergmann, H.: Ther. Gegenw. **24**, 277 (1922). — Bernheim, S.: Bull. Acad. Méd. Paris **14**, 272 (1885). — Bissell, G. W., and coll.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 584 (1949). — Blanchard, K. C., E. H. Dearborn and coll.: Bull. John Hopkins Hosp. **86**, 83 (1950). — Briot, M., et B. N. Halpern: C. r. Soc. Biol. (Paris) **146**, 15 (1952). — (1) Brodie, B. B., and J. Axelrod: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **99**, 171 (1950). — (2) Brodie, B. B., J. J. Burns, T. F. Yü, T. Chenkin, B. C. Paton, J. Steele and A. B. Gutman: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. (im Druck). — Büchi, J., J. Ammann, R. Lieberherr u. E. Eichenberger: Helvet. chim. Acta **36**, 75 (1953). — (1) Buss, C. E.: Dtsch. Arch. klin. Med. **15**, 457 (1875). — (2) Zur antipyretischen Bedeutung der Salicylsäure und des neutralen salicylsauren Natrons. Stuttgart: F. Enke 1876. — (1) Cahn, A., u. P. Hepp: Zbl. klin. Med. **7**, 561 (1886). — (2) Berl. klin. Wschr. **24**, 4 (1887). — Calesnick, B., and R. Beutner: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 629 (1949). — (1) Cauwenberge, H. van, and C. Heusghem: Lancet **260**, 771 (1951). — (2) C. r. Soc. Biol. (Paris) **145**, 1272 (1951). — Ceresa, F., et G. F. Rubino: Minerva med. (Torino) **1951**,

217. — (1) Champy, C., et M. Demay: C. r. Soc. Biol. (Paris) **145**, 1042 (1951). — (2) Bull. Acad. Méd. (Paris) **135**, 13 (1951). — Cochran, J. D., R. D. Watson and J. Reid: Brit. Med. J., No. 4624, 1411 (1950/II). (1) Coste, F., M. Bourel et coll.: Presse Méd. **1953**, 979. — (2) Coste, F., M. Bourel et F. Delbarre: C. r. Soc. Biol. (Paris) **147**, 668 (1953). — (3) Coste, F., et F. Delbarre: Presse Méd. **1953**, 46. — Coutu, L.: Presse Méd. **1950**, 781. — Döbner, O., u. M. Gieseke: Ann. d. Chem. **242**, 290 (1887). — (1) Domenjoz, R.: Int. Rec. Med. a. Gen. Prac. Clin. **165**, 467 (1952). — (2) Schweiz. med. Wschr. **1952**, 1023. — (3) Annales Universitatis Saraviensis No. 4, 317 (1953). — (4) Domenjoz, R., H. Eckel u. W. Theobald: Mschr. Psychiatr. u. Neurol. **129** (1955), (im Druck). — Ducommun, P.: Praxis (Bern) **1952**, 641. Eppinger, H., J. Faltitscheck, H. Kaunitz u. H. Popper: Klin. Wschr. **1934**, 1105, 1137. — Erlenmeyer, H., u. E. Willi: Helvet. chim. Acta **18**, 740 (1935). — Fellinger, K., A. Ferstl u. Mitarb.: Med. Klin. **1951**, 976. — (1) Filehne, W.: Z. klin. Med. **32**, 569 (1897); (2) **7**, 641 (1884). — Fraenkel, A.: Dtsch. med. Wschr. **1886**, 751, 772. — Fromherz, K.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **61**, 205 (1937). — Gardner, L. I., I. F. Crigler and C. J. Migeon: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **78**, 460 (1951). — (1) Gerhardt, Ch.: Ann. d. Chem. **87**, 57, 149 (1853). (2) Ann. de Chim. Ser. 3, **37**, 285 (1853). — Gilm, H.: Ann. d. Chem. **112**, 180 (1859). — (1) Giroud, A., M. Martinet et M. T. Bellon: C. r. Soc. Biol. (Paris) **135**, 514 (1941). — (2) Giroud, A., N. Santa et coll.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **134**, 100 (1940). — Gobielsky, E.: Berl. klin. Wschr. **23**, 463 (1886). — (1) Gross, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 421 (1950). — (2) Schweiz. med. Wschr. **1950**, 697. — (3) Gross, F., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1949**, 1154. — Gsell, O., u. W. Müller: Schweiz. med. Wschr. **1950**, 310. — Haas, H., u. H. Kraft: Arzneimittel-Forsch. **4**, 249 (1954). — Häfliger, F.: DRP. 903578 vom 31.10.1951. — Hailman, H. F.: J. Clin. Endocrin. **12**, 454 (1952). — Halberkann, J., u. F. Fretwurst: Arg. Inst. Biol. Sao Paulo **11**, 149 (1940); zit. nach Brodie et coll. — Halpern, B. N., et M. Briot: Arch. internat. Pharmacodynamie **91**, 291 (1952). — Heilmeyer, L., J. Frey, L. Weissbecker, G. Buchegger, H. Kilchling u. H. Begemann: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 1124. — Hess, J.: Berl. klin. Wschr. **25**, 793 (1888). — Hidalgo, J., C. D. McClure and coll.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **80**, 97 (1952). — (1) Hinsberg, O.: Ann. d. Chem. **305**, 276 (1899). — (2) Hinsberg, O., u. A. Kast: Zbl. med. Wiss. **25**, 145 (1887). — Hirsch, R.: Berl. klin. Wschr. **24**, 863 (1887). — Januschke, H.: Wien. klin. Wschr. **1913**, 869. — Kaufmann, H. P., u. Lan Sun Huang: Ber. d. Chem. **75**, 1225 (1942). — Kelemen, E., M. Majoros, J. Ivanyi u. K. Kovacs: Experientia (Basel) **6**, 435 (1950). — (1) Knorr, L.: Ber. dtsch. chem. Ges. **17**, 546 (1884). — (2) Knorr, L., u. F. Stolz: Ann. d. Chem. **293**, 58 (1896). — (1) Kuzell, W. C., and R. W. Schaffarzick: Standford Med. Bull. **9**, 194 (1951). — (2) Kuzell, W. C., R. W. Schaffarzick and coll.: J. Amer. Med. Assoc. **149**, 729 (1952). — Labelle, A., and J. A. Tornaben: Science (Lancaster, Pa.) **114**, 187 (1951). — Lespagnol, A., et L. Thieblot: Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **34**, 608 (1952). — (1) Loening, K.: Münch. med. Wschr. **1912**, 469, 537, 592. — (2) Z. Krk.pfl. **1922**. — Marshall, E. K. jr., and K. C. Blanchard: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **95**, 185 (1949). — Meier, R., F. Gross u. P. Desaulles: Klin. Wschr. **1951**, 653. — Merkel, F.: Münch. med. Wschr. **1888**, 551. Morrison, J. L., A. P. Richardson et W. L. Bloom: Arch. internat. Pharmacodynamie **88**, 98 (1951). — Mosonyi, L., u. G. Ducks: Wien. med. Wschr. **101**, 362 (1951). — (1) Pasqualini, R. Q.: Prensa méd. argent. **1950**, 757. — (2) Pasqualini, R. Q., C. D. Pasqualini et J. C. Garberi: C. r. Soc. Biol. (Paris) **145**, 122 (1951). — Pincus, G., and F. Elmadjian: Annual Rev. Physiol. Stanford, USA., **16**, 403 (1954). — (1) Pfeiffer, C. C., and A. T. Hasegawa: J. Pharmacol. a Exper. Ther. **103**, 357 (1951). — (2) Pfeiffer, C. C., and R. E. Lee:

J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **98**, 26 (1950). — (3) Pfeiffer, C. C., R. E. Lee and coll.: Proc. Inst. Med. Chicago **18**, 96 (1950). — (1) Pulver, R.: Schweiz. med. Wschr. **1950**, 308. — (2) Pulver, R., u. G. Wilhelmi: Schweiz. Z. Tbk. **9**, 86 (1952). — (1) Robinson, F. B., M. D. Thesisl Bristos **1950**. — (2) Brit. Med. J., No. 4701, 300 (1951/I). — Roe, J. H., and C. A. Kuether: J. of Biol. Chem. **147**, 399 (1943). — Roskam, J., R. Vivario et coll.: Bull. Acad. roy. Méd. Belg. **16**, 561 (1951). — Salzer, H., u. R. Fischer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **179**, 334 (1935). — Schikorr, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 190 (1932). — Schoenheimer, R., and W. M. Sperry: J. of Biol. Chem. **106**, 745 (1934). — (1) Schottmüller, H.: Münch. med. Wschr. **1927**, 860; (2) **1929**, 445, 499. — Schuler, W., et R. Meier: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 290 (1951). — Schumacher, H.: Z. Rheumaforsch. **11**, 105 (1952). — (1) Seifter, J., D. H. Baeder and A. J. Begany: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 277 (1949). — (2) Seifter, J., D. H. Baeder and A. Dervinis: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 136 (1949). — Selye, H.: Brit. Med. J., No. 4637, 1129 (1949/II). — Sinniger, A.: Schweiz. med. Wschr. **1954**, 351. — (1) Smith, M. J. H.: Nature (Lond.) **170**, 240 (1952). — (2) Smith, W., and J. H. Humphrey: Brit. J. Exper. Path. **30**, 560 (1949). — Spain, D. M.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **82**, 358 (1953). — Starkenstein, E.: Biochem. Z. **106**, 172 (1920). — Stenzl, H., A. Staub, Ch. Simon u. W. Baumann: Helvet. chim. Acta **33**, fasc. V, 1183 (1950). — Swyer, G. I. M.: Biochemic. J. **42**, 28 (1948). — Takahashi, T., and coll.: J. Pharmaceut. Soc. Japan **72**, 614 (1952); ref. Chem. Abstr. **47**, 6406d (1953). — Thiersch, C.: Sammlung klin. Vorträge Nr. 84 u. 85; 637. Leipzig: Volkmann 1875. — Voorhees, A. B., H. J. Baker and E. J. Pulaski: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **76**, 254 (1951). — (1) Wilhelmi, G.: Schweiz. med. Wschr. **1950**, 936. — (2) Die Medizinische **1952**, Nr. 50, 1591. — (3) Helvet. physiol. Acta **10**, C33—C35 (1952). — (4) Wilhelmi, G., u. J. P. Currie: Schweiz. med. Wschr. **1954**, 1315. — (5) Wilhelmi, G., et R. Domenjoz: Arch. internat. Pharmacodynamie **85**, 129 (1951). — (6) Arzneimittel-Forsch. **1**, 151 (1951). — Winternitz-Koranyi, M.: Dtsch. med. Wschr. **1930**, 1779. — Yü, T. F., J. H. Sirota and A. B. Gutman: J. Clin. Invest. **32**, 1121 (1953).

Diskussion.

Heubner (Heidelberg): Wenn man die Originalpublikationen der Kliniker und Ärzte über die Behandlung des akuten Gelenkrheumatismus mit Salicylsäure Anfang der 70er und mit Antipyrin Ende der 80er Jahre liest, fällt es auf, wie ähnlich, zuweilen wörtlich identisch die begeisterten Erfolgsberichte lauten. Ich habe daher stets geglaubt, daß beide Mittel antiphlogistisch wirken, obwohl mehrere Jahrzehnte lang, bis zu Schottmüllers Pyramidontherapie, Antipyrin (und Pyramidon) als reine Fiebermittel galten. Auf dem 6. Kongreß der Union thérapeutique in Rom hörte ich am 25. September einen Vortrag, in dem gerade die Fieberwirkung der Salicylsäure gegenüber den Pyrazolonderivaten (ich glaube an Meerschweinchen) sowie die stärkere Wirkung der letztgenannten auf Entzündungsprozesse (ich glaube die Formalinreaktion der Rattenpfote) hervorgehoben wurde. Hat der Herr Vortragende Erfahrungen über die antipyretische Wirkung?

Schmid (Tübingen): Pyrazolonderivate haben nach Versuchen des Institutes (Breuninger) an Ratten eine Hemmwirkung auf eine interessante Notfallsfunktion. Bei Unterkühlung und Überwärmung der Tiere kommt es durch eine zentral ausgelöste Adrenalinausschüttung zum Anstieg des Blutdruckes. Die

Reaktion wird durch Pyramidon und Irgapyrin bei Dosen von 0,03 g/kg i.v. abgeschwächt und von 0,1 g/kg i.v. unterdrückt. Die Hemmwirkung geht nicht parallel mit der temperatursenkenden Wirkung. So wirkten Salicylat nur schwach, Morphin und Polamidon in nicht toxischen Dosen überhaupt nicht hemmend.

Bei der Messung und dem quantitativen Vergleich von antiphlogistischen Wirkungen mit dem Ödemtest muß berücksichtigt werden, daß nicht nur die Entzündung ein komplexer Vorgang ist, sondern daß auch das entzündliche Ödem sich in den einzelnen Phasen der Entzündung verschieden hält, wie der Trypanblau-Test deutlich zeigt. Daraus können gewisse, von dem Vortragenden herausgestellte Differenzen zwischen experimentellem Befund und klinischer Erfahrung erklärt werden.

Haas (Mannheim): 1. Unter den Lösungsvermittlern für Aminopyrin nimmt die p-Aminobenzoesäure eine gewisse Sonderstellung ein, da sie im Gegensatz zu anderen Säuren die antiphlogistischen Eigenschaften des Aminopyrins sichtlich verstärkt.

2. Die entzündungshemmende Wirkung des 1,4-Diphenyl-3,5-dioxypyrazolidins ist in ihrer Wirkungsintensität bei den einzelnen Salzformen unterschiedlich; außerdem ist der Reinheitsgrad wichtig.

3. Die Substitution in 4-Stellung bietet nicht nur bei den Dioxopyrazolidinen, sondern auch in der Gruppe der Pyrazole die Möglichkeit, zu analgetisch und antiphlogistisch wirksamen Verbindungen zu gelangen, die gleichzeitig lösungsvermittelnde Eigenschaften für Aminopyrin besitzen.

Eichholtz (Heidelberg): Eine breitere Auffassung der antiphlogistischen Wirkung hätte zu berücksichtigen die ganze Reihe der Antagonisten (Sympatholytica, Parasympatholytica, Ganglienblocker, Spasmolytica, Antihistaminkörper u. a.).

Weidmann (Kopenhagen): Die Versuche von Coste u. Mitarbeitern, welche nach Verabreichung von Salicylsäure eine Ascorbinsäureherabsetzung in den Nebennieren hypophysektomierter Ratten feststellten, wurden erweitert. Dabei ergab sich, daß im Test nach Sayers die Wirkung von 10 g Salicylsäure der Aktivität von einer IE ACTH entspricht. — Phenylbutazon andererseits setzte die Ascorbinsäure in den Nebennieren hypophysektomierter Ratten nicht herab.

Bucher (Basel): Aus den Tabellen ist zu entnehmen, daß die zu vergleichenden Stoffe in verschiedener Dosierung angewandt wurden. Frage: Handelt es sich hierbei um äquitoxische Dosen, um Schwellendosen, oder nach welchen evtl. anderen Gesichtspunkten wurden diese Dosen ausgewählt?

Grab (Wuppertal): In den mitgeteilten Versuchen von Domenjoz wurde das Antiphlogistikum immer 45 min vor dem Phlogistikum gegeben. Nun sind aber in den gezeigten Tabellen Stoffe miteinander verglichen mit sehr verschiedener Löslichkeit, Resorptions-, Ausscheidungsgeschwindigkeit, so daß sich nach s.c. Darreichung im Lauf der nächsten 3 Std die maximalen Blutspiegelwerte des Antiphlogistikums zu ganz verschiedenen Zeiten einstellen werden. Ist nicht zu erwarten, daß sich die geprüften Antiphlogistika in ganz anderer als der aus dem Routineversuch ergebenden Reihenfolge anordnen würden, wenn man die Antiphlogistika früher oder später, je nach ihrer schlechteren oder besseren Resorption, gegeben hätte?

Liegen Versuche vor mit chronischer Darreichung der Antiphlogistika? Solchen chronischen Versuchen kommt besondere Bedeutung zu, da ja die Antiphlogistika zum Teil über die NNR wirken und die NNR sich in ihrer Aktivität sehr rasch umstellen kann, sich nach einer Depletionsphase rasch wieder regenerieren kann. Die NNR-Hormone werden ja nicht nur aus Vorratsstoffen der Drüse, sondern in

weit größerem Umfang aus dem der NNR zufließenden Baumaterial gebildet. Chronische Versuche sind auch deshalb besonders wichtig, weil in der Klinik Antiphlogistika als Antirheumatika kaum kurzfristig, sondern meist während längerer Zeit gegeben werden müssen. In welcher Reihenfolge ordnen sich die geprüften Antiphlogistika im chronischen Versuch?

Schlußwort Domenjoz (Homburg): Wir haben bei unseren Untersuchungen die antipyretische Komponente nicht berücksichtigt und können somit auch die Korrelationen zu der entzündungshemmenden Wirkung nicht beurteilen. Schon die vergleichende Betrachtung der antiphlogistischen Eigenschaften ist jedoch dadurch sehr erschwert, daß die Wirksamkeit bei den einzelnen Pharmaka je nach dem benutzten Entzündungsmodell große Unterschiede aufweist. So ist z. B. Natriumsalicylat am Formalinödem kaum wirksam im Vergleich zu Aminopyrin, dem eine gute anti-inflammatorische Wirkung zukommt; am Dextranödem hingegen sind beide Wirkstoffe ungefähr gleich gut wirksam.

Es ist kein Zweifel, daß die im Tierversuch festgestellten entzündungshemmenden Effekte nur unter zahlreichen Einschränkungen auf die Verhältnisse der Klinik übertragen werden dürfen. Außer den von Herrn Schmid erwähnten einzelnen Phasen des entzündlichen Ödems muß u. a. auch die Tatsache berücksichtigt werden, daß in unseren Tierversuchen alle Substanzen prophylaktisch, vor dem Einsetzen der entzündlichen Reaktion, verabreicht wurden, und daß der Kliniker seine Antiphlogistika immer kurativ, d. h. bei bereits bestehender Entzündung einsetzt.

Wir haben bei unseren Untersuchungen eine große Zahl verschiedenster Pharmaka berücksichtigt und dabei festgestellt, daß sich anti-inflammatorische Effekte in den verschiedensten pharmakologischen Gruppen nachweisen lassen. Bei den heute besprochenen Antipyreticis mußten wir uns jedoch aus technischen Gründen auf eine kleine Auswahl von Vergleichssubstanzen beschränken.

Eine genauere Bearbeitung der antiphlogistischen Eigenschaften setzt voraus, daß bei jedem Pharmakon die gesamte Wirkungsbreite, von der kleinst wirksamen bis zur toxischen Dosis, untersucht wird. Mit Rücksicht auf die Zeit und das ohnehin schon beachtliche Tiermaterial war uns eine Bearbeitung in dieser Breite nicht möglich. Wir haben unsere Versuche deshalb auf wenige Dosen beschränkt, die für alle untersuchten Pharmaka größenordnungsmäßig im gleichen Abstand zu den am Menschen gebräuchlichen Tagesdosen lagen.

Wir haben für alle Versuche das gleiche Applikationsschema gewählt mit Ausnahme von Cortison und ACTH, die in gestaffelten Dosen, 2- bzw. 4mal vor Auslösung der Entzündung, verabreicht wurden. Wir sind uns wohl bewußt, daß diese starre Versuchsanordnung der sogenannten „Biotransformation" der einzelnen Produkte nicht Rechnung trägt. Immerhin scheint gerade bei vergleichenden Experimenten eine standardisierte Versuchsanordnung als wichtige Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Das in unseren Versuchen eingesetzte Zeitintervall von 45 min bis zum Beginn der Schwellungsmessung dürfte wohl in allen Fällen für die Resorption ausreichen, und es ist auch anzunehmen, daß die Ausscheidungs- bzw. Abbauquote bei der an sich sehr kurzen Versuchsdauer von total 120 bzw. 105 min die Resultate nicht grundlegend beeinflußt.

Hinsichtlich der Bedeutung und Wichtigkeit chronischer Versuche, wobei sowohl die Wirkung chronisch verabreichter Antiphlogistika als auch die Beeinflussung chronischer Entzündungsvorgänge zu berücksichtigen wäre, bin ich gleicher Meinung mit Herrn Grab. Unsere Erfahrungen, die ein etwa 3jähriges Arbeitspensum umfassen, erstrecken sich im wesentlichen auf die mitgeteilten akuten Versuche, wobei ich auch hier nochmals auf die bereits erwähnten Faktoren Zeit, Arbeit und Tieraufwand hinweisen muß.

W. Schulemann (Bonn): Grundlagen chemotherapeutischer Forschung unter besonderer Berücksichtigung der Malariatheraphie.

Mit 6 Textabbildungen, davon 2 farbigen.

Die Malariatherapie in ihrer heutigen Form ist das Ergebnis der Zusammenarbeit von Chemikern, Parasitologen, pathologischen Anatomen, Pharmakologen und Klinikern. Besonders geeignet erscheint sie, um an ihr als Beispiel zu zeigen, wie zahlreiche Forschungsgebiete berücksichtigt werden müssen, um Fortschritte in der Arzneitherapie von Infektionskrankheiten zu erreichen, also „Chemotherapie" zu treiben. Zugleich möchte ich erneut darauf hinweisen, wie untrennbar verbunden Grundlagen- und Zweckforschung sind und wie enge Verflechtungen insbesondere zwischen Pharmakologie und Chemotherapie bestehen.

Ich gebe zunächst einen kurzen Überblick über den heutigen Stand der Forschung auf dem Gebiet der Arzneitherapie der Malaria:

Schon lange vor der Entdeckung der Erreger der Malariainfektion (P. malariae, Laveran 1881; P. vivax, Grassi und Feletti 1890; P. falciparum, Welch 1897) war die therapeutische Wirkung der China-

Abb. 1 (Schema A).

rinde bekannt. Ronald Ross (1895/97) erkannte die Entwicklung der Plasmodien in der „Mücke" und stellte die Übertragbarkeit dieser Protozoen über diesen Zwischenwirt fest. Jahrzehntelange Arbeit vieler Forscher enthüllte anschließend weitere Einzelheiten des Entwicklungscyclus im Vertebraten.

Schematisch ist das Ergebnis der Forschung auf diesem Gebiet auf den Abb. 1—3 (Schema A—C) dargestellt. Während die Entwicklung in der Mücke (Abb. 1) relativ frühzeitig in allen Einzelheiten aufgeklärt werden konnte, war noch im Jahre 1924 die Erkenntnis über den Ablauf der Entwicklung im Vertebraten (Abb. 2) recht lückenhaft.

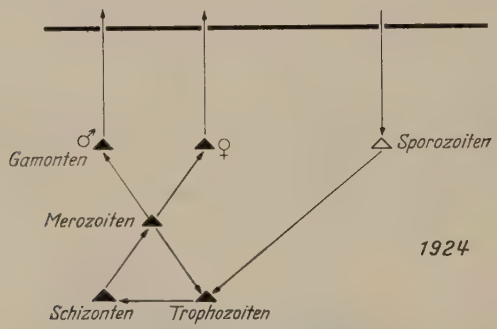
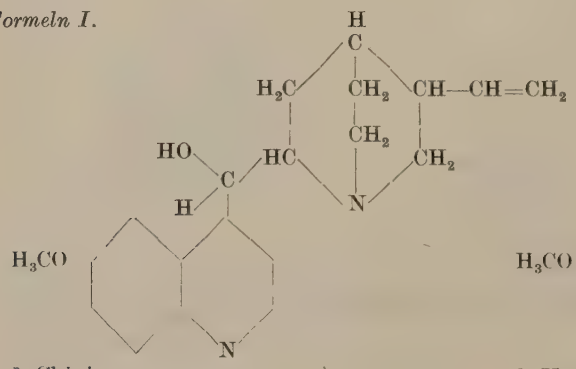


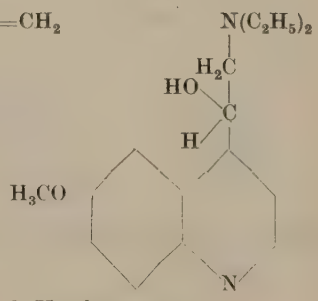
Abb. 2 (Schema B).

Bis zu diesem Zeitpunkt waren wesentliche Fortschritte in der Auffindung neuer, insbesondere synthetisch darstellbarer, gegen Malaria wirksamer Stoffe nicht erzielt worden. Zur Therapie wurde praktisch nur das aus der Chinarinde (von Runge 1819; Pelletier und Caventou 1820) isolierte Chinin verwendet. Nahezu ein Jahrhundert intensiver Forscherarbeit war notwendig zur Aufklärung seiner Konstitution (F. I. 1).

Formeln I.



1. Chinin



2. Kaufmann 1913

Vergeblich blieb das Bemühen, in Anlehnung an die Konstitution des Chinin (z. B. KARRER und KAUFMANN, F. I. 2) gegen Malaria wirksame Verbindungen zu synthetisieren, in denen ein Chinolinringsystem über eine „Kohlenstoffbrücke" hinweg verknüpft war mit einer basisch substituierten Seitenkette. Nur auf Grund klinisch-therapeutischer Versuche hatten EHRLICH und GUTTMANN (1891) das Methylenblau (F. II. 1), WERNER (1910) das Salvarsan bzw. Neosalvarsan sehr begrenzt gegen P. malariae bzw. P. vivax wirksam gefunden.

Zudem stießen in der Anfangszeit alle chemotherapeutischen Bestrebungen auf die große Schwierigkeit, daß ein zur serienmäßigen Auswertung brauchbarer Laboratoriumstest fehlte.

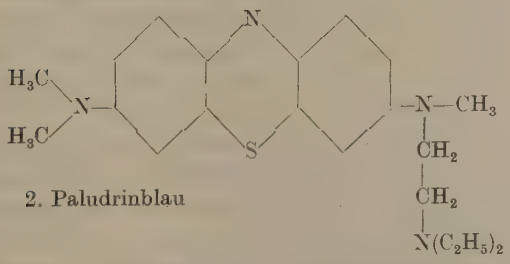
Ihn zu schaffen gelang erstmalig unserem alten Freunde und Mitarbeiter WALTER ROEHL (anschließend an vorangehende Versuche von KOPANARIS, SERGENT, GIEMSA und MARKS).

Er infizierte Kanarienvögel durch i.m. Übertragung der erythrocytären Entwicklungsphase von P. relictum, entwickelte die per orale Behandlungstechnik und beobachtete deren Einfluß auf die Weiterentwicklung der Infektion.

Mit Hilfe dieses — wie er heute genannt wird — „ROEHL-Testes" fand er zunächst das von SCHULEMANN, SCHÖNHÖFER und WINGLER (DRP 486079 vom 12. 9. 1924) dargestellte Plasmochin — ein Derivat des **8-Aminochinolin** — (F. III. 2) wirksam. Zwischenstufen in der Entwicklung waren Verbindungen, deren Konstitution aus F. II. 2 und F. III. 1 zu ersehen ist.

Formeln II.

1. Methylenblau

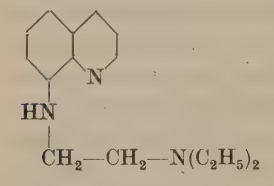


2. Paludrinblau

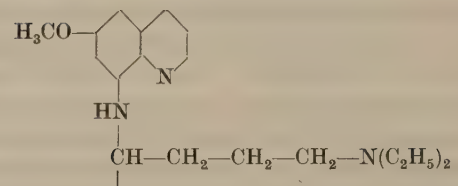
Die klinische Prüfung des Plasmochin brachte viele Überraschungen und damit Anregungen für die Weiterarbeit sowohl in wissenschaftlicher wie praktischer Richtung.

Formeln III.

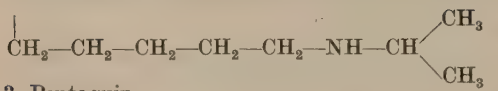
8-Aminochinolin.



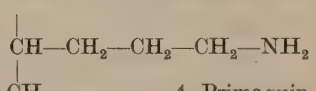
1. Vorprodukt



2. Plasmochin



3. Pentaquin



4. Primaquin

Im Gegensatz zum Chinin erwies sich das Plasmochin als wirksam gegen die Gamonten von P. falciparum, reduzierte — in geeigneter Weise angewandt — die Rückfallquoten besonders bei Infektion mit P. vivax und erwies sich James als wahres kausales Prophylakticum gegen die Infektion mit P. falciparum, obwohl es gegen die erythrocytären Formen praktisch unwirksam ist. Aber seine relativ hohe Giftigkeit einerseits, seine vergleichsweise schwache Wirkung gegen die „Blut"-Schizonten andererseits schränkte die praktisch-therapeutische Anwendung des Plasmochin stark ein.

Um so intensiver wirkte sich für die Weiterentwicklung des Malariaproblemes in seiner ganzen Breite die Tatsache aus, daß nunmehr mit synthetisch leicht zugänglichen und rasch variierbaren Verbindungen völlig neue Effekte erzielt werden konnten.

Im Plasmochin ist das Chinolinringsystem über eine „Stickstoffbrücke" hinweg mit einer basisch substituierten Seitenkette verknüpft. Dieses neue Prinzip übertrugen wir sofort auf eine ganze Reihe anderer — teils heterocyclischer, teils aromatischer — Ringsysteme wie z. B. Acridin [unter besonderer Mitarbeit von Mauss und Mietzsch], Xanthen, Azin, Oxazin, Thiazin, Di- und Triarylmethan (EP 267 169 und deutsche Zusatzpatente) unter Variation der Stellung der Aminogruppen und Art, Zahl und Stellung anderer Substituenten.

Alle diese Arbeiten wurden in Elberfeld in dem Forschungslaboratorium jenes Teiles der früheren *I. G. Farbenindustrie A.G.* ausgeführt, der heute unter dem Namen *Farbenfabriken Bayer A.G.* erfolgreich weiterwirkt.

Weitere chemotherapeutische Erfolge aber waren nur durch erneute Zusammenarbeit mit dem Biologen zu erreichen. Mit Hilfe des Roehl-Testes ist es nur möglich im Prinzip festzustellen, ob eine neue Verbindung mit Wahrscheinlichkeit wirksam sein wird gegen P. vivax, falci-

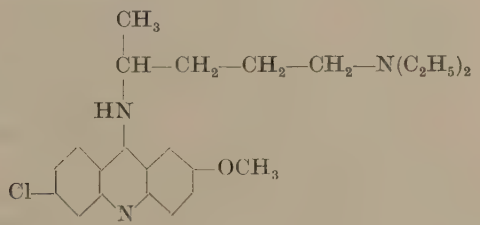
parum oder malariae. Eine feinere Wirkungsanalyse ist auf diese Weise nicht möglich. Auch die Verwendung anderer Plasmodienarten wie z. B. P. cathemerium, elongatum, circumflexum und anderer mehr, die KIKUTH an Stelle von P. relictum verwendete, brachte damals keinen Fortschritt.

Erst als KIKUTH ein neues Testverfahren unter Benutzung der Infektion des Reisfinken mit Haemoproteus oryzyvorae entwickelt hatte, wurde es möglich, spezifisch gegen die Blutschizonten des Menschen wirkende Mittel im Tierversuch zu erkennen. Er konnte damit unter den von MAUSS und MIETZSCH dargestellten Acridinverbindungen das Atebrin als „Schizontenmittel" charakterisieren (F. IV. 1) und später für das von

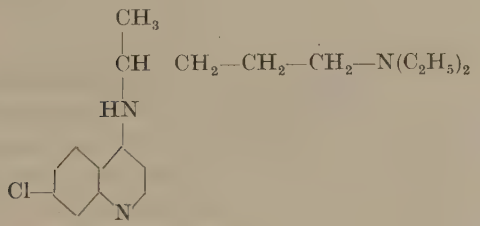
Formeln IV.

Akridin und **4-Aminochinolin**

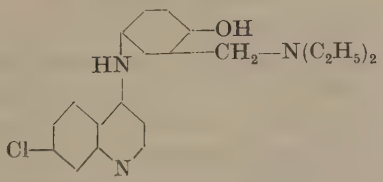
1. Atebrin



2. Resochin



3. Camoquin



ANDERSAG, BREITNER und JUNG dargestellte Sontochin und Resochin (DRP 683692 vom 8. 10. 1937) (F. IV. 2) die gleiche Wirkungsqualität nachweisen. Besonders hervorgehoben sei, daß durch die von ANDERSAG gefundene elegante Synthese des **4-Aminochinolin** und seiner Substitutionsprodukte unter Verwendung von Oxalessigester diese praktisch-therapeutisch so wichtige Verbindungsreihe erstmalig auch technisch zugänglich wurde. Auch diese Arbeiten wurden in den Forschungs-

laboratorien der *Farbenfabriken Bayer A. G.* ausgeführt. Daß in der Praxis das Resochin dem Sontochin vorzuziehen ist, wurde durch Untersuchungen amerikanischer und englischer Forscher festgestellt. Das seit 1949 von Parke, Davis and Co. hergestellte Camoquin (S N 1075. 1946) gehört zur gleichen Gruppe (F. IV. 3) und wirkt — soweit aus den bisher vorliegenden Berichten zu erkennen ist — in ähnlicher Weise wie Atebrin und Resochin.

Die klinische Auswertung dieser Schizontenmittel bestätigte in vollem Umfang die von Kikuth ausgesprochene Erwartung. Atebrin und Resochin entsprechen in der Wirkungsqualität dem Chinin, d. h. sie unterdrücken durch Einwirkung auf die erythrocytären, asexuellen Entwicklungsformen die klinischen Symptome („suppressive cure"; zur Nomenklatur vgl. Covell, Russel und Swellengrebel, Malaria Terminology, in Monograph Series der World Health Organisation Genf 1953). Sie sind nur zur klinischen Prophylaxe („clinical drug prophylaxis") verwendbar und haben auf die Entwicklung der Rückfallquoten einen ähnlich geringen Einfluß wie das Chinin. Quantitativ und bezüglich der geringen Nebenwirkungen sind sie aber dem Chinin weit überlegen. Arzneifestigkeit gegen Atebrin und Resochin konnte weder experimentell erzeugt noch ihr Auftreten im Verlauf der therapeutischen Anwendung beobachtet werden. In praktischer Hinsicht erwiesen sich diese relativ wenig giftigen und gut wirksamen Arzneistoffe als besonders wertvoll.

Für Atebrin standen diese Tatsachen schon wenige Jahre nach seiner Einführung in die praktische Therapie fest. Allgemeine Anerkennung fand Atebrin aber erst in den Jahren 1939/40 nachdem der Bedarf an Antimalariamitteln stark anstieg und Chinin kaum noch zur Verfügung stand. Sherndal (Chemical and Engineering News **21**, 1157 1943) beziffert die Jahresproduktion von 1943 in den USA auf 2,5 Milliarden Tabletten Atebrin, also etwa 7 Millionen täglich.

Bei der großen Bedeutung, die der Bekämpfung der Malaria, dieser weitest verbreiteten Infektionskrankheit, zukam und auch heute noch in gewissem Umfang zukommt, ist es zu verstehen, daß allerseits intensive Bemühungen einsetzten, neue, möglichst in Wirkungsstärke wie -Qualität verbesserte Arzneistoffe aufzufinden.

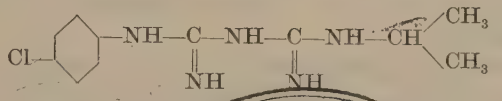
Die Ergebnisse sind — verglichen mit dem Umfang des Einsatzes an Arbeitskräften und Geldmitteln — relativ spärlich. Wiselogle [A Survey of Antimalarial Drugs 1941—45. Edwards. Ann. Arbor, Michigan. 1946 referiert über 15297 S-N (S-N = Survey Number)] Präparate, Coatney, Cooper, Eddy und Grünberg [Survey of Antimalarial Agents. Public Health Monograph. No. 9. Washington. 1953] über die Prüfungsergebnisse, die mit 400 Substanzen von 1941—1952 gegenüber der Infektion mit P. gallinaceum erzielt wurden.

Ich muß Interessenten auf diese und andere Zusammenstellungen dieser Art in der Literatur verweisen und mich darauf beschränken, hier über das zu berichten, was mir wissenschaftlich und praktisch besonders bemerkenswert erscheint[1].

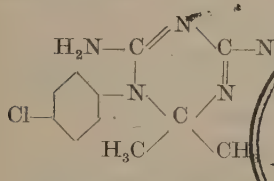
So hebe ich nur noch das von Curd, Davy und Rose (Ann. trop. Med. Parasit **39**, 157 1945) in den Forschungslaboratorien der *Imperial Chemical Industries*, Manchester entwickelte Proguanil (Paludrin) (F. V. 1) hervor. Gegenüber den heterocyclisch-basischen Antimalarica

Formeln V.

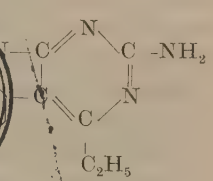
1. Proguanil



2. Stoffw. Prod.



3. Daraprim



BOSTON MEDICAL
MAY 12 1961
LIBRARY

der Chinolinreihe ist Proguanil eine originelle Neuentwicklung — in ihm ist ein Biguanidrest verknüpft mit einem aromatischen Ring.

Soweit aus den bisher vorliegenden Berichten zu erkennen ist, liegt im Proguanil ein gut aber relativ langsam gegen Blutschizonten wirkendes Mittel vor, das bei seiner recht geringen Giftigkeit auch zur klinischen Prophylaxe brauchbar ist, aber keine Reduktion der Rückfallquoten bewirkt. Im Stoffwechsel des Vertebraten wird es zum Teil umgewandelt in ein Triazinderivat (F. V. 2).

Eine diesem Umwandlungsprodukt des Proguanil ähnliche Struktur zeigt das in USA entwickelte Diazinderivat „Daraprim" (F. V. 3), dem auch ähnliche therapeutische Eigenschaften zukommen.

Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, daß sowohl während Proguanil- wie Daraprimanwendung das Auftreten von Arzneiresistenz beobachtet wurde. Sie kann auch experimentell erzeugt werden.

Auf alle diese Phänomene komme ich später noch zurück.

Trotz des großen praktischen Erfolges mit diesen Schizontenmitteln machte die Rückfallbekämpfung weiterhin große Schwierigkeiten. So wandte sich erneut das Interesse dem Plasmochin zu, das als ein Derivat des 8-Aminochinolin gametocide und rückfallverhindernde Wirkung

[1]) Eine ausführliche Literaturübersicht erscheint 1955 in den „Ergebnissen der Mikrobiologie, Immunitätsforschung, Experiment. Therapie und Hygiene" im Springer-Verlag in dem Abschnitt: W. Schulemann „Ergebnisse der Malariaforschung seit 1925".

aufweist, aber relativ toxisch ist. Das in USA entwickelte Pentaquin (F. III. 3) (und auch Iso-Pentaquin) brachte kaum einen Fortschritt, hingegen kommen bei dem, dem Plasmochin sehr nahe verwandten Primaquin [15 mg Primaquin sind bei der Malariainfektion des Menschen annähernd so wirksam wie 60 mg Plasmochin (cf. H. J. Edgcomb u. Mitarb. J. National Malaria Soc. Vol. 9, No. 4 p. 285—292. 1950)] die oben genannten Wirkungsqualitäten der Derivate des 8-Aminochinolin nach den bisher vorliegenden Erfahrungen, insbesondere während des Koreakrieges, weit besser und vollständiger zur Auswirkung. Primaquin (F. III. 4) trägt an Stelle einer Diäthylaminogruppe in der Seitenkette eine freie Aminogruppe.

Mit diesen neuen Arzneistoffen ist es im Vergleich zur Chininära möglich geworden, eine intensivere und zugleich gezielte Therapie gegen die einzelnen Erscheinungsformen der Malariainfektion (kausale und klinische Prophylaxe, klinische oder radikale Behandlung der akuten Infektion, Abtötung bzw. Sterilisation der Geschlechtsformen und damit Unterbrechung der Übertragung durch die Mücke und endlich Verhinderung oder Beseitigung von Rückfällen) auszuführen.

Durch diese Fortschritte auf therapeutischem Gebiet wurden Parasitologen und Kliniker angeregt — in gewissem Umfang war ihnen damit auch erst die technische Möglichkeit gegeben — die 1924 noch recht lückenhaft bekannten parasitologischen und pathologisch-anatomischen Grundlagen der Malariainfektion erneut intensiv zu bearbeiten. Wußte man doch damals nur sehr wenig von dem Geschehen während der Inkubationszeit, d. h. der Zeit vom Eindringen der Sporozoiten in den Körper bis zum Ausbruch des typischen Malariaanfalles wie auch über Ursache und Natur der Rückfälle.

Es ist insbesondere das Verdienst von Warrington Yorke und von S. P. James, durch eigene klar durchdachte und sorgfältig durchgeführte Arbeiten den unmittelbaren Anstoß zur Lösung dieser Probleme gegeben zu haben. Dieser beiden hervorragenden Forscher und Freunde, die zugleich auch ein leuchtendes Beispiel für wahre wissenschaftliche Zusammenarbeit stets gegeben haben, gedenke ich auch heute mit besonderer Verbundenheit und Verehrung.

Die Ergebnisse der von ihnen und einer großen Zahl weiterer Forscher [z. B. James, Raffaele, Kikuth, Mudrow, Reichenow, Huff, Shortt, Garnham (vgl. dazu besonders Shortt, Bray u. Cooper „Further Notes on the Tissue Stages of Plasmodium Cynomolgi" Transact. of the Royal Soc. of Trop. Me. a. Hygien. Vol. 48, No. 2 March 1954 p. 122—131). Dort Hinweis auf alle früheren Arbeiten dieser Forscher auf diesem Gebiet] während der letzten 30 Jahre zur Lösung dieser Fragen geleisteten Arbeit habe ich versucht auf Schema C (Abb. 3) möglichst übersichtlich zusammenzustellen.

Aus diesem Schema, das die Entwicklung der Plasmodiden der Vögel darstellt, werden zunächst die Zusammenhänge der einzelnen Entwicklungsstadien der Malariaparasiten untereinander und ihre Beziehungen

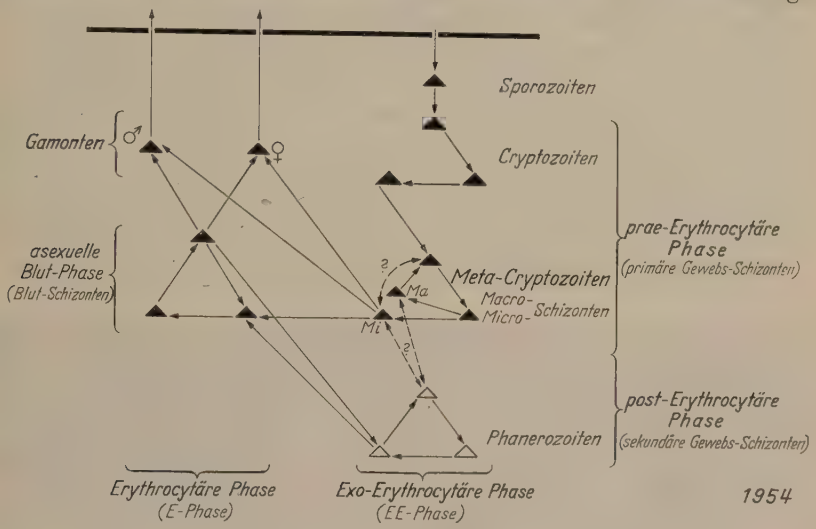


Abb. 3 (Schema C).

zu den schon seit langem bekannten erythrocytären Formen erkennbar. Die Sporozoiten werden zu Cryptozoiten, dann zu Meta-Cryptozoiten, die über die „Macromerozoiten" sich in vielen Generationen weiter vermehren und zum Teil übergehen in „Mikromerozoiten". Diese greifen auf die Erythrocyten über, teils werden sie zu „Blut"-Trophozoiten, „Blut"-Schizonten und „Blut"-Merozoiten, teils direkt zu Gamonten.

Sicher festgestellt ist ferner — durch experimentelle Infektion mit parasitenhaltigen Erythrocyten — daß die erythrocytäre Infektion, falls sie genügend lange besteht, rückläufig exoerythrocytäre Formen wieder erzeugen kann, die heute als „Phanerozoiten" bezeichnet werden. Es ist eine noch offene Frage, ob und welche Beziehungen zwischen Metacryptozoiten und Phanerozoiten bestehen, bzw. ob es sich da um identische oder gleichwertige Entwicklungsstadien handelt.

Die Entwicklung der Plasmodiden in den Säugetieren und im Menschen verläuft, wie aus den oben zitierten Arbeiten von Shortt und seinen Mitarb. hervorgeht auf einem einfacheren, direkten Weg. Bray weist in seiner Arbeit „The Tissue Phase of Malaria Parasites" [J. Trop. Med. Hyg. Vol. 57, No. 2, p. 41—45, 1954] p. 44 darauf hin, daß bei den Säugetieren (und dem Menschen) die Gewebsformen nur aus Sporozoiten oder aus anderen Gewebsformen hervorgehen, niemals aber sich von erythrocytären Parasitenformen ableiten können. Die bei den Vögeln mit Sicherheit festgestellte „retrograde" Entwicklung von exoerythro-

cytären Parasitenformen nach Überimpfung erythrocytärer Formen — also die Bildung von „Phanerozoiten" — ist bei den Malariaparasiten der Säuger und des Menschen nicht festgestellt worden.

Einige Schnittpräparate von Organen eines mit P. cathemerium infizierten Kanarienvogels sollen Ihnen Morphologie und Lage exoerythrocytärer Formen illustrieren. Sie sind nach einer von WURMBACH und mir ausgearbeiteten Modifikation der GIEMSA-Färbung gefärbt. Es gelingt auf diese Weise nicht nur die Malariaparasiten, sondern praktisch auch andere Protozoen wie Coccidien, Leishmannien, Trypanosomen usw. im Schnitt in gleicher Nuancierung, wie das früher nur im Ausstrich möglich war, darzustellen zugleich unter Differenzierung der jeweiligen Wirtszellen.

(Folgt Projektion, vor allem exoerythrocytärer Entwicklungsformen[1].)

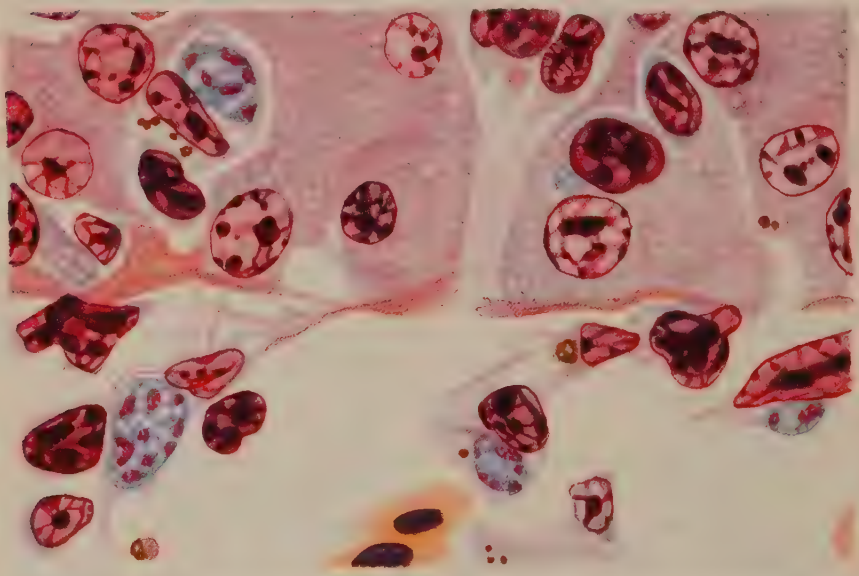


Abb. 4. Exo-erythrocytäre Entwicklungsformen von P. cathemerium. Leberschnitt (Kanarienvogel).

Diese wenigen Beispiele werden deutlich machen, wie verschieden die Struktur der einzelnen Entwicklungsformen und ihr Sitz im Gewebe des Vertebraten ist.

Diese Entwicklungsstadien des Parasiten und pathologisch-anatomischen Veränderungen im Wirt stehen nun in engstem Zusammenhang mit dem Infektionsablauf und der Therapie.

Während der Inkubationszeit mit ihren oft sehr unklaren Symptomen entwickeln sich Cryptozoiten und Metacryptozoiten in diesen Gewebs-

[1] Es ist aus drucktechnischen Gründen nur möglich, zwei Beispiele hier zu reproduzieren.

zellen. Für eine wahre „kausale" Prophylaxe sind daher nur solche Verbindungen verwendbar, die während dieses „präerythrocytären" Abschnittes der exoerythrocytären Phase gegen diese Entwicklungsstadien wirksam sind. Dieser Effekt wird bisher bei der Infektion mit P. vivax nur von einigen Derivaten des 8-Aminochinolin erreicht. Bei der Infektion mit P. falciparum sind jedoch auch Paludrin [cf. CIUCA u. Mitarb. (Bull. of the World Health Organis. 1. p. 297—300, 1948); THOMAS u. Mitarb. (Transact. of the Royal Soc. of Trop. Med. and Hygien. Vol. 47, No. 4, p. 338—345, 1953)] und Daraprim wirksam. Bei prophylaktischen Gaben aller sonstigen Antimalarica (Chinin, Atebrin, Resochin, Proguanil, Daraprim) entwickelt sich bei der Infektion mit P. vivax eine latente exoerythrocytäre Infektion; lediglich das Übergreifen auf die Erythro-

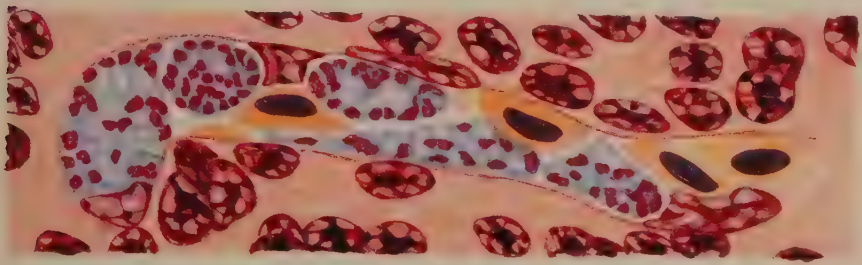


Abb. 5. Exo-erythrocytäre Entwicklungsformen von P. cathemerium. Gehirnschnitt (Kanarienvogel).

cyten und damit die Entwicklung klinischer Symptome werden unterdrückt (clinical prophylaxis und suppressive therapy).

Ist die erythrocytäre Infektion bei Beginn der Therapie schon entwickelt, so sind die letztgenannten Verbindungen ausschließlich wirksam gegen die asexuellen erythrocytären Entwicklungsstadien. Das Auftreten von Früh- und Spätrückfällen vermögen sie nicht zu verhindern. Gegen die post-erythrocytären Formen der exo-erythrocytären Phase von P. vivax sind sie wirkungslos.

Wirksam gegen die Gamonten bzw. Gameten von P. falciparum sind — wie schon oben gesagt — die Derivate des 8-Aminochinolin. Im gleichen Sinne wirksam aber hat sich auch das Paludrin gezeigt (SHUTE und MARYON, Parasitology. Vol. 38, No. 4, p. 265—270, 1948) und in der praktischen Anwendung entsprechend bewährt.

Erst die Fortschritte in der Erforschung des Entwicklungscyclus der Parasiten und der Pathologie des Wirtes machten es möglich, diese so selektiven therapeutischen Eigenschaften zu verstehen. Selbstverständlich liegt es nahe, die tiefere Ursache für die unterschiedliche Wirkung der einzelnen Malariamittel in der so weitgehenden Differenzierung der einzelnen Entwicklungsformen des asexuellen Cyclus der Plasmodien zu suchen, in ihrer besonderen Struktur, ihrem spezifischen Stoffwechsel

und ihrem Sitz in den verschiedenen Zellen des Gewebes und des Blutes. So wurden auch auf diesem Gebiete Untersuchungen mannigfaltigster Art durchgeführt.

Christophers und Fulton (Ann. trop. Med. Parasit. **32**, 43 1938) begannen kurz vor dem Kriege bei P. knowlesi, einem Malariaparasiten des Affen, und bei Trypanosomen mit Stoffwechseluntersuchungen. Ihre interessanten Ergebnisse regten eine Flut von Arbeiten auf diesem Gebiete an. [Übersichten über den Inhalt vieler Hundert derartiger Arbeiten finden sich bei

Findlay Recent Advances in Chemotherapy Band II 3. Aufl. London 1951, p. 505—560;

A. L. Woff Biochemistry and Physiology of Protozoa New York 1951. 440 Seiten;

v. Brand Chemical Physiology of Endoparasitic Animals New York 1953. 340 Seiten.]

Viele Theorien wurden auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse aufgestellt. So wurde z. B. die Frage diskutiert, ob Plasmochin und die ihm verwandten Verbindungen von Einfluß wären auf die Respiration der erythrocytären Parasitenformen, die ihrerseits abhängig zu sein scheinen von dem durch Hämoglobin aktivierten Sauerstoff. Bei dem Atebrin deuten manche Beobachtungen darauf hin, daß es von Einfluß sei auf das Riboflavinsystem bzw. auf dessen Aktivatoren. Bezüglich Proguanil wurde als möglich bezeichnet, daß seine Wirkung durch Chelatbildung mit Metallionen bedingt sein könne.

So bestechend klar und einfach diese und andere Theorien anfänglich erschienen, so kompliziert wurde das Bild, als durch viele weitere Untersuchungen später immer tieferer Einblick in das Stoffwechselgeschehen gewonnen wurde. Wir begegnen hier ganz der gleichen Situation wie wir sie insbesondere bezüglich der in vitro-Versuche mit lebendem oder überlebendem Gewebe auf dem gesamten Stoffwechselgebiet mit oft viel zu frühen und zu weit gehenden Verallgemeinerungen leider sattsam kennen.

Mit McKee können wir zusammenfassend nur feststellen, daß die bisherigen Untersuchungsergebnisse darauf hindeuten, daß die gegen Malaria wirksamen Stoffe in Beziehung treten zu Enzymen und Genen oder anderen Nucleoproteiden und Stoffen, die ihrerseits den Stoffwechsel der Parasiten regulieren bzw. für ihn notwendig sind. Vielfach liegen synergistisch-antagonistische Reaktionen vor, deren Ablauf durch Zusatz von Coenzymen, oder anderen für den Stoffwechselverlauf maßgebenden Verbindungen beeinflußt werden kann.

Aber trotz der Fülle des vorliegenden Materials ist es heute noch nicht möglich in das Einzelne gehende Erklärungen für die selektive Wirkung der Antimalarica zu geben. Ebenso wenig lassen sich jetzt schon Gesetzmäßigkeiten ableiten für eine zielgerichtete Entwicklung noch besserer

Arzneistoffe. Versuche in dieser Richtung weiterzukommen, sind zwar vielfach gemacht worden, die Ergebnisse waren allerdings oft recht überraschend.

Hingewiesen sei z. B. auf die Arbeiten von Léon Schmidt und von Madinaveitia und Raventos über die Veränderung des Proguanil einerseits, des Daraprim andererseits im Stoffwechsel des Wirtsorganismus. Das Umwandlungsprodukt des Proguanil konnte isoliert, seine Konstitution aufgeklärt (F. V. 2) und die Verbindung selbst synthetisiert werden. Gegen P. gallinaceum wirkte sie weit stärker als die Muttersubstanz, aber bei den Plasmodien der Malaria des Menschen brachte sie therapeutisch nicht den erhofften Fortschritt. Ob und welche Rolle die Umwandlungsprodukte des Proguanil und Daraprim für die nach Anwendung dieser beiden Stoffe entstehende, über den sexuellen Cyclus vererbbaren Arzneiresistenz spielen, ist ebenfalls ein noch ungelöstes Problem. Praktisch bedeutungsvoll erscheint vielmehr eine andere Feststellung:

Chinin, Atebrin und Resochin wirken auf die frühen Stadien der asexuellen erythrocytären Entwicklung von P. falciparum ein, während die Wirkung des Proguanil — und wohl auch des Daraprim — erst auf das Chromatin der späteren sich teilenden Stadien der Blut-Schizonten einsetzt. Bei therapeutischer Anwendung von Proguanil und Daraprim erfolgt die Wirkung langsamer und Parasiten und Fieber verschwinden später als nach den anderen Schizontenmitteln.

Im ganzen gesehen hat sich die auf dem Stoffwechselgebiet geleistete Arbeit für die Entwicklung neuer gegen die Malariainfektion wirksamer Arzneistoffe noch nicht fruchtbringend ausgewirkt.

Es ist jedoch durchaus möglich, weitere Fortschritte zu erzielen durch Ausgestaltung neuer Testmethoden, die einerseits aufgebaut sind auf den vorliegenden wissenschaftlichen Erkenntnissen und klinischen Erfahrungen, die andererseits ausgerichtet sind auf die erstrebten neuen Ziele.

Heute wissen wir, daß nicht nur die verschiedenen Arten von Plasmodien sondern auch einzelne Stämme einer Art sich in differenter typischer Weise im Wirt entwickeln können und oft auch ganz verschiedene Empfindlichkeiten gegenüber Arzneistoffen haben. Nach einer Zusammenstellung in der „Malariology" (Boyd-Coatney Philadelphia 1949 Bd. 1, p. 30/33) sind rund 150 Arten von Plasmodien bekannt. Ein Beispiel für *verschiedene Stämme einer Art* ist zusammenfassend dargestellt in einer Arbeit von Wilcox, Jeffery und Young Americ. J. of Trop. Med. a. Hyg. Vol. 3, No. 4, p. 638—664, 1954.

Von P. vivax ist der St. Elizabeth-Stamm von „normaler" Empfindlichkeit, bei dem Chesson-Stamm ist die Neigung, gehäufte Frührecidive zu bilden, nur schwer zu bekämpfen, während der Donaldson-Stamm ähnlich wie P. ovale therapeutisch leicht zu beeinflussen ist. Wie gering

die morphologischen Unterschiede bei gleichem Sitz in Erythrocyten sind, geht aus den dieser Arbeit von Wilcox u. Mitarb. beigegebenen Abbildungen (p. 646—649) hervor.

Entwicklungstypen.

I. Elongatum		*IV. Cynomolgi*	
P. elongatum	Vogel	P. cynomolgi, P. inui	Affe
P. berghei	Congo-Baumratte	P. vivax, P. ovale, P. malariae	Mensch
II. Gallinaceum			
P. gallinaceum	(Huhn)	*V. Falciparum*	
P. relictum, P. cathemerium, P. lophurae	Vogel	P. falciparum	Mensch
		VI. Murinum	
		P. Murinum	Fledermaus
III. Mexicanum		*VII. Kochi*	
P. mexicanum	Eidechse	Hepatocystis kochi	afrikanische Fledermaus

Die vorstehende Tabelle gibt einen Überblick über die bekannten Entwicklungstypen verschiedener Plasmodien.

Mit der Auswahl einer Parasitenart oder eines Stammes ist also zunächst schon eine Möglichkeit gegeben, neue Testmethoden für besondere Ziele aufzubauen.

Weitere Variationsmöglichkeiten für die Ausgestaltung von Testmethoden eröffnen sich durch Änderung der Virulenz eines Parasitenstammes. So gelang es z. B. Kikuth und Mudrow-Reichenow durch direkte Übertragung von exoerythrocytären Formen von P. cathemerium einen Stamm zu erzeugen, der die Kanarien in etwa 9—10 Tagen nahezu regelmäßig tötet. Mit Hilfe dieses Stammes konnten sie den prinzipiellen Wirkungsunterschied zwischen Chinin und Atebrin einerseits, Plasmochin andererseits im Laborversuch nachweisen. Ich kann ihre mit diesem Stamm erzielten therapeutischen Ergebnisse, den sie mir etwa 1940 freundlicherweise überlassen hatten, in vollem Umfang bestätigen und zugleich auf Grund genauester pathologisch-anatomischer und histologischer — gemeinsam mit Wurmbach ausgeführten — Arbeiten darauf hinweisen, daß die exoerythrocytäre Infektion überwog. Durch die Kriegswirren ging dieser Stamm leider sowohl in Elberfeld wie bei uns verloren und es ist uns auch nicht gelungen aus einer noch vorhandenen latenten Infektion den früheren virulenten Charakter dieses Stammes wieder herauszuzüchten.

Besonders enttäuschend aber war es für uns, daß es uns trotz größter Mühe in Versuchen, die wir viele Jahre hindurch in allen uns denkbaren

Variationen durchführten, nicht gelungen ist, aus neu von uns isolierten Wildstämmen von P. cathemerium auf dem einst von KIKUTH und MUDROW beschrittenen Wege — also durch direkte Übertragung von Exoformen in Leberbrei — eine Weiterübertragung durchzuführen, um auf diese Weise eine Virulenzsteigerung zu erreichen.

Diese Virulenzsteigerung erzielten wir dann aber doch noch auf dem an sich üblichen Wege häufiger Passagen durch die Mücke. Unser neuer Stamm zeigt die gleiche Virulenz wie der frühere mit gleichfalls überwiegend exoerythrocytärem Infektionsverlauf. Typische Gewebsveränderungen treten auch bei ihm auf. Im Vordergrund der pathologischen Befunde aber stehen hier — abweichend von dem früheren Stamm — schwere Veränderungen im Zentralnervensystem, während die Störungen in Milz, Leber, Lunge usw. geringer sind, als wir sie bei dem KIKUTH-MUDROW-Stamm zu sehen gewohnt waren.

Auch hinsichtlich der Arzneimittelempfindlichkeit sind diese Stämme verschieden. Chinin einerseits und Plasmochin wie auch Primaquin andererseits zeigen bei beiden Stämmen den charakteristischen Wirkungsunterschied. Aber das bei dem KIKUTH-MUDROW-Stamm unwirksame Atebrin ist, wie ich mit BASU fand, bei unserem neuen Stamm therapeutisch gut wirksam, obwohl — wie gesagt — auch bei ihm die exoerythrocytäre Phase überwiegt.

Im Lichte all dieser Tatsachen erscheint der von KIKUTH geschaffene und mit vollem Erfolg zur Auswertung der Blut-Schizontenmittel angewandte Hämoproteustest als eine ganz besondere Leistung. Hätte er sich von der theoretischen Vorstellung leiten lassen, daß Blutschizonten und Gewebsschizonten sich gegen Arzneistoffe verschieden verhalten, so wäre es ihm nicht gelungen, einen so grundlegenden Beitrag für die praktische Malariatherapie zu leisten. Bei dem Reisfinken sitzen ja die Entwicklungsformen von H. oryzyvorae, die den Blutschizonten der Plasmodiden entsprechen, im Gewebe.

Daß auch die Technik, mit deren Hilfe die Infektion erzeugt wird, von oft ausschlaggebender Bedeutung für den Ablauf einer Infektion ist — z. B. Infektion mit Sporozoiten oder Übertragung erythrocytärer Formen — ist eine so allgemein bekannte Tatsache, daß ein kurzer Hinweis darauf genügt.

Ebenso ist es nur nötig anzudeuten, von welcher Bedeutung die Auswahl des Wirtes ist. Nicht nur seine Art sondern auch seine Individualität beeinflussen maßgeblich den Infektionsverlauf.

Nur wenig Sicheres ist über den Einfluß des Wirtsorganismus auf den Krankheitsverlauf und seine Beeinflußbarkeit durch Arzneistoffe bekannt.

Ein Beispiel für das Eingreifen von wirtseigenen Abwehrkräften auf den Verlauf der unbehandelten Malaria zeigt das folgende Schema (Abb. 6).

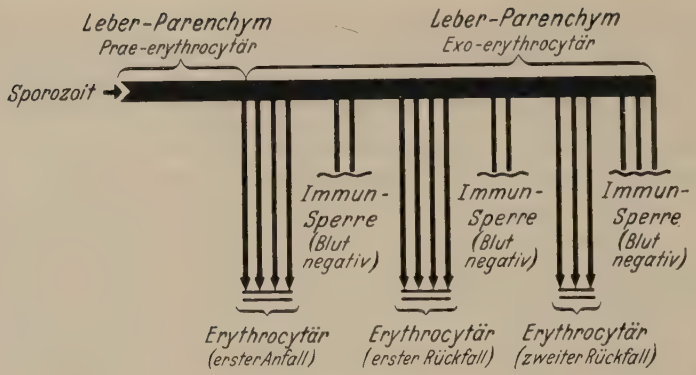


Abb. 6.

Für den Entwicklungstyp von P. cynomolgy wird in diesem Schema das periodische Eingreifen von Immunisierungsvorgängen dargestellt.

Gemeinsam mit Knoche fand ich, daß nach Übertragung erythrocytärer Formen von P. gallinaceum auf das Huhn der Ablauf der Infektion durch Vor- und Simultanbehandlung des Wirtes mit i.v. gegebenen kolloidem Palladium grundsätzlich verändert werden kann. Wir sahen bei unseren Pd-Tieren auffallend frühzeitiges Auftreten klinischer Symptome und pathologisch-anatomischer Veränderungen der Malaria, die durch exoerythrocytäre Entwicklungsformen bedingt waren. Ursache war allein eine Änderung des Funktionszustandes des RES des Wirtstieres. In diesem Zusammenhang gewinnt die Technik der „Vitalfärbung" mit sauren Farbstoffen und physiko-chemisch verwandten Hydrosolen erneutes Interesse [vgl. dazu auch die Arbeiten von Gillmann und Gilbert (South African Journ. Med. Sciences Vol. 14, p. 21—83. 1949)].

Wir sehen also, daß es durchaus möglich ist durch Auswahl geeigneter Parasitenarten und Stämme, durch Änderung ihrer Virulenz, durch Anwendung einer geeigneten Infektionstechnik, durch Auswahl eines geeigneten Wirtstieres und durch Beeinflussung seiner Abwehrfunktionen neue Laboratoriumsteste zur Auswertung neuer Arzneistoffe aufzubauen.

Den Therapeuten aber interessieren nicht nur die Wirkungen sondern auch die Nebenwirkungen von Arzneistoffen. Auch auf diesem Gebiet der Malariatherapie gibt es eine Fülle von Problemen, die vielfach nur teilweise gelöst sind.

Vom Plasmochin haben Fischer und Weise behauptet, daß auftretende Cyanosen stets bedingt seien durch Hämiglobinbildung. Das trifft keineswegs für alle „Cyanosefälle" zu. Zipf hat in unseren Tropenlazaretten in Godesberg in vielen Fällen von Cyanose beobachtet, daß der Hämiglobinspiegel sich oft nur zwischen 1 und 2%, selten bis 3% bewegte. Zudem handelt es sich meist um ausgesprochene

Acrocyanosen. McKee bestätigte mir nach Kriegsende, daß auch nach seinen Beobachtungen Kreislaufstörungen — er hat im Gegensatz zu Fischer und Weise oft Störungen im Elektrokardiogramm gesehen — Ursache dieser Nebenwirkung sind.

Eine weitere Komplikation bilden gelegentlich auftretende „Leibschmerzen". Leon H. Schmidt konnte für diese recht unklare klinische Bezeichnung im Tierversuch zeigen, daß starke Spasmen der Darmmuskulatur auftreten und sogar zu multiplen Intussusceptionen des Darmes führen können.

Die praktische Erfahrung hat gezeigt, daß diese Nebenwirkungen des Plasmochin häufiger und stärker auftreten, wenn es simultan mit Atebrin gegeben wird, während gleichzeitige Chiningaben das Auftreten dieser Symptome mildern oder verhindern, eine Tatsache, auf die schon Eichholtz, Memmi und ich (1926) hingewiesen haben.

Hier liegen also Synergismen und Antagonismen vor, deren weiteres Studium nicht nur wissenschaftlich sondern auch praktisch bedeutungsvoll ist.

In einigen Versuchen, die Basu in Bonn ausführte, glauben wir Möglichkeiten zu weiterer experimenteller Bearbeitung auch dieser Fragen gefunden zu haben.

Ein weiteres interessantes Problem ist durch neurotoxische Nebenwirkungen gegeben, die insbesondere bei therapeutisch nicht mehr verwendeten gegen Malaria wirksamen Verbindungen auftreten können. Das gilt besonders für das französische bzw. russische „Plasmocid — ein 8-Aminochinolinderivat mit einer geraden Seitenkette mit nur 3-CH_2-Gliedern. Leon H. Schmidt konnte im Tierversuch — am Affen — diese Störungen erzeugen und in vorbildlichen Versuchen näher analysieren. Durch Anfügen einer CH_3-Gruppe in 2-Stellung des Chinolinringes — also bei Verwendung von Amino-Chinaldinderivaten —, werden wie auch uns bekannt war, die Wirkungen gegen Malaria meist völlig aufgehoben. L. Schmidt fand, daß die neurotoxischen Nebenwirkungen oft erhalten bleiben und durch weitere Substituenten gesteigert werden können. So treten also noch weitere Aspekte zutage, die für den Pharmakologen und Toxikologen interessant sind.

Auf Grundlagen der Chemotherapie im allgemeinen, ihre Zusammenhänge mit der Pharmakologie im besonderen habe ich schon in meinem Referat „über den heutigen Stand pharmakologischer Forschung" während unserer Tagung im vergangenen Jahr in Bonn (bes. p. 7—9) hingewiesen.

Am Beispiel der Arzneitherapie der Malaria habe ich heute diese Betrachtungen im einzelnen nochmals durchgeführt.

Ich war bemüht, einen Überblick über den Stand der Forschung seit der Zeit des Beginns der Arbeiten, die zur Auffindung der synthetisch

darstellbaren Antimalariamittel führten, zu geben. Anschließend daran wollte ich — keineswegs im Sinne der häufig üblichen Erfolgsübersichten — zeigen, welche Impulse diese neu gefundenen Tatsachen der wissenschaftlichen und praktischen Weiterentwicklung der Malariaforschung in ihrem gesamten Umfang gegeben haben und wie sie sich auswirkten.

Die Bahnen, in denen die Forschung auf dem Malariagebiet verlief, sind typisch für das gesamte Gebiet der Chemotherapie. Daß keine Identität besteht, ist jedoch selbstverständlich.

Bei den Viren stehen die Forschungen auf dem Stoffwechselgebiet — sowohl des Erregers, wie des Wirtes in ihren wechselseitigen engen Beziehungen, einschließlich Immunisierungsvorgängen — zur Zeit im Vordergrund des Interesses und eine weitere integrierende Grundlage für den Fortschritt wird geschaffen durch das Studium der pathologisch-anatomischen Veränderungen im Wirt.

Bakterien und Spirochäten nehmen eine gewisse Mittelstellung zwischen Viren und Protozoen ein. Die Forschung versucht hier noch besonders in die Feinstruktur der Erreger und ihre Bedeutung für Stoffwechsel und Therapie einzudringen. Zugleich ist bezüglich Arzneistoffwirkung zu berücksichtigen die wechselnde Empfindlichkeit der Erreger in ihren verschiedenen Wachstumsphasen und Formen.

Bei den Infektionen durch Protozoen liegen — selbstverständlich sinngemäß variiert entsprechend ihrer jeweiligen Natur, ihrer besonderen Entwicklungscyclen usw. — ähnliche Verhältnisse wie bei der Malaria vor.

Äußerst verwickelt und unter Einschaltung oft mehrerer Wirte und Zwischenwirte ist die Entwicklung der auch anatomisch hochorganisierten Würmer — die geradezu ihre eigene „Pharmakologie" haben. Meist führt auch die Infektion mit ihnen zu besonders schweren Gewebsveränderungen — z. B. bei den Filarien und Schistosomen —, von denen dann der Erfolg der Therapie oft besonders abhängig ist.

Zusammenfassend müssen wir leider bekennen, daß unsere bisherigen Kenntnisse von der Struktur der Parasiten und ihren einzelnen Entwicklungsformen, ihres Stoffwechsels und ihres Sitzes im Gewebe usw. noch zu lückenhaft sind, um klare Richtlinien für die Weiterarbeit daraus ableiten zu können. Auch Betrachtungen über direkte oder indirekte Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung helfen uns trotz des großen vorliegenden Materials nur recht bedingt weiter.

Immer wieder wird es darauf ankommen, neue chemotherapeutische Testverfahren aufzubauen unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Grundlagenforschung und der Erfahrungen der Kliniker. Auch heute noch kommen wir nur zu Ergebnissen, wenn wir die Wirkung neuer — oft aber auch schon bekannter — Substanzen experimentell im zweckmäßig ausgestalteten Laboratoriumsversuch vergleichend prüfen.

Große Fortschritte sind in den letzten 50 Jahren auf dem Gebiet der Chemotherapie gemacht worden. Bescheiden aber müssen wir uns stets vor Augen halten, daß damit nur ein — wenn auch erfreulicher — Anfang vorliegt. Mit jedem gelösten Problem taucht eine Hydra neuer Probleme auf, an deren Lösung wir mit immer neuem Mut und auf immer besserer wissenschaftlicher Grundlage herangehen.

Literatur.

C. B. Clayman u. Mitarb.: J. Amer. Med. Assoc. **149**, 1563 (1952). — Edgcomb, J. H., u. Mitarb.: J. Nat. Malaria Soc. **9**, 285 (1950).

Diskussion.

Winckel (Amsterdam): Der schöne und klare Vortrag von Herrn Schulemann veranlaßt mich zu 2 Bemerkungen und zu einer Frage.

1. Aus dem uns gezeigten Schema über den Entwicklungscyclus der Parasiten der menschlichen Malaria, und aus den Ausführungen des Redners habe ich verstanden, daß nach seiner Meinung aus den Blutparasiten sekundäre Gewebsparasiten gebildet werden können. Ich glaube, daß dies nicht der Fall ist. Seit 1921 üben wir in den psychiatrischen Universitätskliniken von Amsterdam die Malariatherapie der Paralyse nach Wagner-Jauregg. Dabei (und bei den zufälligen Malariafällen durch Bluttransfusionen) ist es klar geworden, daß die durch Beimpfung mit Merozoiten und Trophozoiten verursachte Malariainfektion ausnahmslos radikal geheilt wird durch ein paar Gramm Chinin oder durch eine 5tägige Atebrinkur. Wenn man dagegen den Paralytiker mit Malaria infiziert durch Mückenstich (Sporozoiten), so wurde Rezidiven nur vorgebeugt durch eine Kur mit Chinoplasmin, also Chinin mit Plasmochin.

2. Dies bringt mich zu meiner zweiten Bemerkung: Das Plasmochin ist besser als sein Ruf; seit 1930 wird es, als Chinoplasmin, in der endemischen Malariagegend Hollands angewandt, auch bei laufenden Kranken und in der Kassenpraxis, von bestem Erfolg und ohne Nebenerscheinungen. Dabei muß man jedoch bedenken, daß wir in Holland nur die niedrige Dose von 30 mg Plasmochin pro Tag benutzt haben.

Allerdings steht auch fest, daß Primaquin viel weniger toxisch ist als Plasmochin, und deshalb einen Fortschritt bedeutet.

3. Ich erlaube mir die Frage, ob Herr Schulemann die ursprünglichen amerikanischen Versuche mit Primaquin kennt. Edgcomb u. Clayman haben berichtet, daß die Kombination Chinin-Primaquin besser vertragen wird als die Kombination Chloroquine-Primaquin oder als Primaquin ohne Zusatz, weil im erstgenannten Falle der Methämoglobingehalt des Blutes bedeutend niedriger ist als in den anderen Fällen.

Schlußwort Schulemann: Ich gebe zunächst meiner Freude darüber Ausdruck, den persönlichen Kontakt mit Herrn Dr. Winckel durch dessen Besuch dieser Tagung wiedergewonnen zu haben.

Mit Rücksicht auf die zur Verfügung stehende Redezeit mußte ich einige Kürzungen im Laufe des Vortrages vornehmen. Die dadurch entstandenen Lücken und Unklarheiten dürften durch den vollständigen Abdruck des Manuskriptes jetzt behoben sein.

Zu Punkt 1 der Ausführungen von Herrn Dr. Winckel verweise ich darauf, daß nach der Übertragung erythrocytärer Parasitenformen zu therapeutischen

Zwecken die entstehende Infektion mit Rücksicht auf den Pat. relativ frühzeitig coupiert wird. So steht bei der Impfmalaria des Menschen nicht Zeit genug zur etwaigen Entwicklung von „Phanerozoiten" zur Verfügung. Im übrigen aber stimmt die von Herrn Winckel geäußerte Ansicht durchaus mit der von Shortt u. Mitarb. (l. c.) überein.

Zu 2 bestätige ich die guten Erfahrungen von Herrn Winckel mit Chinoplasmin aus den eigenen therapeutischen Ergebnissen in den Tropenlazaretten in Godesberg.

Zu 3 weise ich darauf hin, daß die von Edgcomb u. Mitarb. mitgeteilten Ergebnisse bei den jetzt vom Referenten ausgeführten experimentell-toxikologischen Arbeiten mit Kombinationspräparaten eingehende Berücksichtigung finden.

F. Turba (Mainz): Papierchromatographie in der Pharmakologie.

Mit 1 Textabbildung.

Die Entwicklung jeder Wissenschaft ist gekennzeichnet durch periodische, von neuen Methoden oder Ideen verursachte *Eruptionen an Aktivität*, denen ruhigere Intervalle folgen, sobald die stimulierende Wirkung erschöpft ist. Es kann keinen Zweifel daran geben, daß sich die Naturwissenschaften im weitesten Sinn von den physikalischen bis zu den biologischen Disziplinen heute in einer *aktiven Phase* befinden. Dazu haben in den beiden letzten Dezenien zwei Methoden entscheidend beigetragen: die Verwendung von *Isotopen* und die *chromatographischen Verfahren*.

Das Prinzip der Chromatographie wird leicht aus folgendem (wenn auch stark vereinfachtem) Vergleich (G. Hesse) verständlich: zwei Mannschaften gleichwertiger Läufer werden in einem Rennen etwa gemeinsam durchs Ziel gehen; ist aber die erste Mannschaft bei gleicher Schnelligkeit im Laufen flinker im *Überwinden von Hindernissen*, so wird sie in einem Hürdenlauf mit um so größerem Abstand vor der zweiten Mannschaft gewinnen, je mehr Hürden zu überspringen sind. Versteht man unter den Mannschaften Molekülhaufen, unter der Rennstrecke ein poröses Medium, das in definierter Richtung durchströmt wird, und unter den Hürden unterschiedlich verzögernde Prinzipien physikalisch-chemischer Natur, so ist leicht einzusehen, daß eine Trennung sehr nahe verwandter, d. h. in ihren Eigenschaften wenig unterschiedener und darum schwierig zu trennender Stoffe doch gelingen kann, wenn die „Rennstrecke" genügend lang, d. h. die Zahl der „Hürden" genügend groß ist. Je nach Art des retardierenden Prinzips unterscheidet man *Verteilungs-*, *Adsorptions-* und *Ionenaustauschchromatographie*; in der Praxis hat man es häufig mit gemischten Formen zu tun. Ist das poröse Medium in ein Glasrohr gefüllt, so spricht man von *Säulenchromatographie*; wandern die zu trennenden Stoffe in Filterpapier, so heißt das Verfahren sinngemäß *Papierchromatographie*.

Historische Entwicklung.

Noch niemals in der Geschichte unserer Wissenschaft hat eine Jahrzehnte hindurch vernachlässigte Methode plötzlich solche Bedeutung und allgemeine Anerkennung gefunden wie die Papierchromatographie. Die Gründe dafür sind ihre Unkompliziertheit, Empfindlichkeit bei der Erfassung kleinster Mengen, Leistungsfähigkeit und geradezu unglaublich weite Anwendbarkeit. Zwar hieße es zu weit gehen, wollte man PLINIUS (zitiert nach BLOCK)[3], der einen Nachweis von Eisensalz durch Tüpfeln auf Galläpfelextrakt-getränkten Papyrus beschreibt, als Vorläufer der Papierchromatographie bemühen; dagegen scheint es gesichert, daß F. F. RUNGE (vgl. WEIL u. WILLIAMS[48]) um 1850 echte Rundfilterchromatogramme hergestellt hat, so daß danach die Papierchromatographie nicht der jüngste, sondern vielmehr der älteste Sproß in der Familie chromatographischer Methoden wäre; freilich hat RUNGE zum Unterschied von TSWETT[41a] die Möglichkeiten des Verfahrens nicht vorausgesehen. SCHÖNBEIN[39] und GOPPELSRÖDER[16] waren schon um 1890 mit der „Capillaranalyse" der Lösung des Problems greifbar nahe; dieser Augenblick der Entwicklung erscheint uns darum so dramatisch und spannungsgeladen, weil es nur noch des Nachwaschens mit reinem Lösungsmittel bedurft hätte, um der genialen Idee zum Durchbruch zu verhelfen, die danach ein halbes Jahrhundert auf sich warten ließ. Die große Popularität der heutigen Papierchromatographie geht auf Prof. MARTIN aus Cambridge bzw. London und seine Mitarbeiter SYNGE, CONSDEN u. GORDON[7, 28] zurück, die 1944 mit der papierchromatographischen Trennung von 20 Aminosäuren eines Wollehydrolysats den ersten großen Triumph der Methode erreichten, die 1952 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurde. Seitdem ist die Papierchromatographie ein Standardverfahren in jedem biochemisch orientierten Laboratorium geworden.

An Stelle einer wenig anregenden Tabellierung der Routineanwendungen der Papierchromatographie auf pharmakologische Probleme soll zunächst in einem *allgemeinen Teil* das *Methodische* besprochen werden, bevor an Hand einiger *Beispiele* die *Leistungsfähigkeit* wie auch die *Grenze* des Verfahrens im Bereich der Pharmakologie erörtert wird.

Methodisches[42].

Die Technik der Herstellung eines Papierchromatogramms ist bekanntlich sehr einfach. Sie besteht im Auftragen der 1—10%igen, möglichst neutralen und salzfreien Analysenlösung (10—100 μg Substanz) auf einen höchstens 0,5—1 cm großen Fleck eines Streifens oder Bogens holzfreien Filterpapiers, und zwar 2—3 cm von jeder Kante entfernt. Nach dem Eintrocknen läßt man das Lösungsmittel (meist ein Wasser-ent-

haltendes organisches Solvens) über den Fleck und den Rest des Papiers durch Capillarwirkung auf- oder absteigen; im Falle eines „zweidimensionalen" Chromatogramms wird das Durchströmen nach Trocknen des Bogens und Drehen um 90° mit einem zweiten Lösungsmittel wiederholt. Da die Zusammensetzung des Lösungsmittels während des Chromatographierens konstant bleiben und Verdunstung daher ausgeschlossen werden muß, verwendet man *geschlossene Kammern* der verschiedensten Formen, meist aus Glas. Es sind Hunderte verschiedener Abarten, vom Einkochglas bis zum wärmeisolierten, nivellierbaren Handelsgerät, vom kleinen Vorversuch im Reagensglas bis zur Serienfertigung von Chromatogrammen beschrieben worden; das Einfachste (Glasaquarien) ist auch hier häufig das Beste. Eine besonders empfehlenswerte Technik ist nach unserer Erfahrung das mehrmalige Aufsteigenlassen des Lösungsmittels in der gleichen Richtung; man kommt mit Filterbogen von $^1/_4$ der Normalgröße aus, erzielt ausgezeichnete Trennungen auch bei langsam wandernden Substanzen und spart an Material, was insbesondere bei der späteren Herstellung von Radioautogrammen ins Gewicht fällt. Eine weitere, viel angewandte Modifikation ist die Rundfilterchromatographie.

Für quantitative Zwecke gibt man die Lösung statt im Punkt *strichförmig* aus einer durch Auswägen mit Quecksilber geeichten Mikropipette mit Gummikappe auf; ist die Lösung zu verdünnt, so trägt man mehrmals übereinander auf und trocknet durch Überleiten eines Luftstroms.

Die Elution erfolgt zweckmäßig konzentrierend[10], indem man die in die Filterpapierspitze getriebene Substanz durch Verdunsten des Lösungsmittels anreichert; vor mikrobieller Infektion schützt der Zusatz einiger Tropfen Toluol zur Elutionsflüssigkeit.

Der Erfolg des Verfahrens hängt von folgenden einfachen Kriterien ab:

1. *Gute Sättigung* der gasdichten Kammer mit der stabilen und mobilen Phase. Dazu läßt man das Papier vor Beginn des Versuches mehrere Stunden, besser noch über Nacht in der Kammer hängen.

2. *Temperaturkonstanz* während des Versuchs. Verzerrte Fronten haben ihre Ursache meist in seitlicher Erwärmung oder Abkühlung der Kammer.

3. Hinreichend *langsames Vorrücken der Flüssigkeitsfront*[30] (nicht über 3 cm/Std), wobei das schneller aufsaugende Lösungsmittel im Fall zweidimensionaler Chromatogramme senkrecht zur Faserrichtung laufen soll, die häufig durch einen Wasserzeichenpfeil gekennzeichnet ist.

4. *Sauberkeit* bei der Handhabung namentlich der feuchten Bogen.

5. *Entsalzung* der Analysenlösung. Ionen schieben häufig die Analysensubstanzen vor sich her und verhindern so deren Trennung. Der nach unseren Erfahrungen bestbewährte elektrolytische Entsalzer ist der von Dent (s. Turba[42], S. 70) angegebene. Unionisierte Verbindungen (Zucker u. dgl.) reinigt man durch Filtrieren über Kationen- und Anionenaus-

tauscher vor. Proteine müssen meist entfernt werden; über die Ausbeuten vgl. [43].

6. *Richtige Wahl des Lösungsmittels.* Um die Gesichtspunkte für die Auswahl des Lösungsmittels begründen zu können, ist eine kurze Betrachtung der theoretischen Zusammenhänge notwendig.

Die Größe R_F (ratio of front) ist definiert als der Quotient

$$R_F = \frac{\text{Weg der untersuchten Substanz vom Aufgabeort}}{\text{Weg des Lösungsmittels in der gleichen Zeit}}.$$

Betrachtet man *als Beispiel etwa die Papierchromatographie von Glukose in wassergesättigtem Butanol*, so kann als Elementarvorgang die Verteilung der Glukosemoleküle zwischen einem von Papier aufgesogenen Wassertröpfchen und dem daran vorbeifließenden Butanol gelten. Der *Verteilungskoeffizient* α ist in diesem Fall definiert als das Verhältnis:

$$\alpha = \frac{\text{Gewicht Glukose in der stabilen (Wasser-)Phase}}{\text{Gewicht Glukose in der beweglichen (Butanol-)Phase}}.$$

Bei hoher Löslichkeit der Substanz in der wäßrigen Phase (also großem α) tritt demnach eine starke Verzögerung der chromatographischen Wanderung ein, da sie von dem Wassertröpfchen im Papier oft und lange zurückgehalten wird: der R_F-Wert ist also klein; *α und R_F sind verkehrt proportional.* Ferner geht in den Ausdruck noch das gegenseitige Verhältnis der Querschnitte der beiden Phasen ein (bei mehr Wasser/mm² Papierquerschnitt ist die Verzögerung naturgemäß stärker), und es gilt:

$$\alpha = \frac{Q\ \text{beweglich}}{Q\ \text{stabil}} \left(\frac{1}{R_F} - 1 \right).$$

Ist also der Verteilungskoeffizient bekannt, so kann man den R_F-Wert berechnen.

Sucht man daher ein passendes Lösungsmittel für eine neue Stoffklasse, für die Analogiefälle noch nicht beschrieben sind, so nimmt man einen Handversuch im Reagensglas vor. Das Gleichgewicht der Verteilung soll dabei weder extrem auf seiten der beweglichen, noch auf seiten der stabilen (meist wäßrigen) Phase liegen; im ersteren Fall würde die Substanz mit der Flüssigkeitsfront wandern ($R_F = 1$), während sie im letzteren Fall an der Aufgabestelle liegen bliebe ($R_F = 0$). Zweckmäßig ist ein schwaches Überwiegen der Verteilung zugunsten der stabilen Phase, das zu langsamerer Wanderung im Chromatogramm Anlaß gibt. Zeigen die zu trennenden Substanzen unterschiedliche Verteilung zwischen den gewählten Phasen, so ist ihre chromatographische Trennung sicher möglich. Wichtig ist schließlich gute Löslichkeit der Substanz in *beiden* Phasen; anderenfalls kommt es leicht zur Bildung von kometenartigen Schweifen („tails").

Maßgebend für den Einfluß des Lösungsmittels auf den Verteilungskoeffizienten einer Substanz sind van der Waalssche *Kräfte*, *Wasserstoffbrücken* und *Ionenbindungen* zwischen den Molekülen des Lösungsmittels und der gelösten Substanz. Bei den ziemlich spezifischen van der Waalsschen Kräften gilt als Faustregel das „similia similibus" (Butanol begünstigt Aliphaten gegenüber Benzylalkohol); bei ionisierten Stoffen, die sich in der stärker polaren (meist der wäßrigen) Phase besser lösen, ist die Trennung eine Funktion des p_H; man chromatographiert darum vorteilhaft unter Verwendung von Puffern als stabiler Phase.

Lösungsmittel zur Trennung organischer *Säuren* enthalten zweckmäßig etwas starke Säure, um die Dissoziation zurückzudrängen; dann hängt nämlich der Verteilungskoeffizient nur von der freien Säure ab. Anderenfalls kommt es zur Ionisation, die konzentrationsabhängig ist, und als Folge zum Auftreten von „Schwänzen" im Chromatogramm, weil die Verteilung der Ionen, die mit der freien Säure in jedem Punkt des Chromatogramms im Gleichgewicht stehen, zugunsten der wäßrigen Phase verschoben wird. Umgekehrt wird man zur Trennung von *Basen* Ammoniak, Diäthylamin usw. zusetzen. Schwanzbildung ist häufig auch die Folge ungenügender Löslichkeit der Substanz in beiden Phasen; man hilft sich durch Zusatz von Äthanol, Glykol, Formamid u. dgl. Bei Verwendung wassermischbarer Lösungsmittel (auch in diesem Fall ist es richtig, von Verteilung zu sprechen, weil Wasser von der Cellulosefaser selektiv gebunden wird) verhindert der Zusatz von 10—30% Wasser die Entstehung von Schwänzen; zu wenig Wasser bewirkt bei wasserlöslichen Substanzen zu kleine, zu viel Wasser zu hohe R_F-Werte.

Tab. 1 gibt eine *Übersicht über die Auswahl passender Lösungsmittel* für verschiedene Stoffklassen.

Eine strenge Systematik insbesondere von Mehrstoffgemischen lohnt nicht; man kommt durch Probieren schneller zum Ziel. Oft sind Gemische aus 4, ja 5 Lösungsmitteln zufällig empirisch als geeignet erkannt und dann beibehalten worden, ohne daß eine Vereinfachung geprüft wurde.

Die Erkennung der Substanzen im fertigen Chromatogramm ist im Falle gefärbter oder im UV absorbierender Stoffe ohne deren chemische Veränderung direkt möglich; im letzteren Fall ist Durchstrahlen des Papierchromatogramms mit gefiltertem UV-Licht der Wellenlänge maximaler Absorption auf ein darunter gepreßtes Photopapier („Photoprintverfahren"[27]) die Methode der Wahl. Alle Aromaten und viele Heterocyclen sprechen auf dieses Verfahren an; da eine überwiegende Zahl von Pharmaka in diese Gruppe gehört, *kann dieses Verfahren wohl als das allgemeinste zur Erkennung ungefärbter Pharmaka bezeichnet werden, das mit den üblichen Laborhilfsmitteln durchzuführen ist.* Auf jede Substanz anwendbar, aber in der Durchführung komplizierter, ist die neuerdings angegebene Methode des Durchleuchtens der Chromatogrammstreifen mit

Tabelle 1. *Auswahl des Lösungsmittelsystems zur Papierchromatographie.*

Substanz löslich in:	
Wasser, Salzlösg.	**1. Ausschließlich hydrophile Substanzen**
Formamid	löslich in Wasser, nicht in Alkohol;
Eisessig	Butanol/Wasser → Wasser
Phenol	*Beispiel:* AMP, ADP, ATP; meist ionisierte Stoffe
Anilin	*Lösungsmittel:* wäßrige Pufferlösung (ev. mit Solvens-Film); wassermischbare Säuren usw.
Morpholin	*Empfehlenswert:* Ionenaustausch; Ionophorese (Hochspannung)
Pyridin	
Cellosolve	**2. Vorwiegend hydrophile Substanzen**
Methanol	lösen sich in Wasser besser als in Alkohol;
Äthanol	Butanol/Wasser → mehr in Wasser
Propanol	*Beispiel:* Aminosäuren, Zucker, Purine, wasserlösliche Antibiotika
sec-, n-Butanol	*Lösungsmittel:* Butanol bis Amylalkohol mit Zusätzen (Essigsäure, Ameisensäure, Ammoniak, Diäthylamin, Pyridin, Puffer); wassermischbare Lösungsmittel (Alkohole, Ketone) mit 10—30% Wasser
Amylalkohol	*Wichtigste Gruppe für Papierchromatographie*
Cyclohexanol	
Nitrobenzol	**3. Bevorzugt lipophile Substanzen**
Essigester	lösen sich in Alkohol besser als in Wasser;
Dioxan	Butanol/Wasser → Butanol
Aceton	*Beispiel:* Steroide, fettlösliche Vitamine
Meth.-äth.-keton	*Lösungsmittel:* Zusatz niedrer Alkohole zur Erhöhung der Löslichkeit in der wäßrigen Phase; Zusatz von wenig polaren Solv. (Chloroform, Toluol, Petroläther) zur Erniedrigung der Löslichkeit in der organischen Phase
Äther	*Empfehlenswert:* Überführung lipophiler Säuren und Basen in die hydrophylen Salze! Adsorptions-Chromatographie (Al_2O_3)! In Papier stabile Phase Formamid, Glykol; Al_2O_3-Papier!
Schwefelkohlenst.	
Chloroform	**4. Lipoide**
Tetrachlork.	unlöslich in Wasser, löslich in Benzol, Petroläther usw.
Methylenchlorid	*Beispiel:* chlorierte Aromaten (DDT)
Toluol	*Empfehlenswert:* Adsorptions-Chromatographie! Papierchromatographie nur mit „vertauschten" Phasen (Latex-Papier)
Benzol	
Cyclopentan,	
Cyclohexan	
Heptan	
Hexan	
Pentan	

Ultrarot[21]; auch stören dabei alle Arten von Verunreinigungen. Zur chemischen Sichtbarmachung ist eine Vielzahl empfindlicher Farbreaktionen angegeben worden, deren detaillierte Aufzählung sich hier erübrigt. Ein aussichtsreiches Verfahren ist das Besprühen mit mehreren miteinander nicht kollidierenden Farbreagentien nacheinander zur Erkennung ver-

schiedener Substanzen im gleichen Chromatogramm („Vielfarbenentwicklung“[50]). Auch Erzeugung oder Löschung von Fluorescenz ist oft anwendbar.

Zur Identifizierung einer Substanz (abgesehen von den R_F-Werten in verschiedenen Lösungsmitteln) ist die Aufnahme des Ultrarotspektrums die eleganteste und sicherste Methode, die gleichzeitig auch eine quantitative Auswertung ermöglicht. Auch das sichtbare und das UV-Spektrum ist oft zur Identifizierung geeignet.

Wuchsstoffe können im Papierchromatogramm durch ihre fördernde, Hemmstoffe durch ihre hemmende Wirkung, z. B. auf Agarkulturen geeigneter Mikroorganismen erkannt und identifiziert werden („*Bioautographie*“); Analoges gilt für alle biologisch wirksamen Substanzen (Erkennung von Fermenten an der Veränderung des Substrats usw.). Vgl. den Nachweis von Saponinen mittels einer Erythrocyten-Suspension.

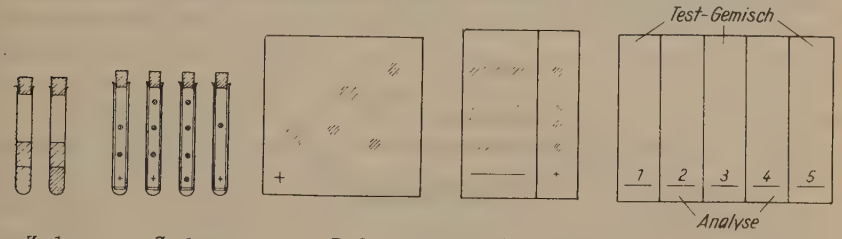
Radioaktiv markierte Stoffe werden im Papierchromatogramm durch Auszählen der betreffenden Fläche im Geiger-Zähler bzw. durch Radioautographie[48] erkannt; dazu preßt man das Chromatogramm auf Röntgenfilm oder -papier auf (100 Impulse/min/cm² ergeben in mehreren Tagen eine deutliche Schwärzung).

Zur quantitativen Auswertung von Papierchromatogrammen (vgl. Tab. 2) mittels einer bekannten Mikromethode zur Bestimmung der betreffenden Substanz ist deren vorherige Elution meist der direkten Bestimmung im Papier vorzuziehen[4]. Wenn angängig arbeitet man eindimensional, gibt die Substanz im Strich auf und zerschneidet zur Elution nach einem Leitchromatogramm. Zur Erreichung einer Genauigkeit von 5—10% ist es unbedingt notwendig, nach einem orientierenden Vorversuch ein möglichst analog zusammengesetztes künstliches Gemisch unter gleichen Bedingungen zu chromatographieren, zu eluieren, quantitativ zu bestimmen und die Ausbeute der eigentlichen Analyse darauf zu beziehen; anderenfalls kann es durch Zerstörung der Substanzen während des Chromatographierens zu Fehlern von über 30%[14] kommen. Eine Fülle von physikalischen und chemischen Methoden zur quantitativen Bestimmung von Pharmaka, die erst zum Teil für papierchromatographische Zwecke ausgenützt worden sind, findet man in „Fourth Review of Analytical Chemistry“ im Kapitel „Pharmaceutical and Natural Drugs“[15]. Besonders wertvoll sind *quantitative Verfahren, die sich radioaktiver Isotopen bedienen*, wie das Isotopenverdünnungsverfahren; es gehört zu den genauesten derzeit bekannten Methoden und ist nicht schwieriger zu handhaben als andere Mikroverfahren.

Anwendungsbeispiele.

Wie jede Naturwissenschaft im weitesten Sinn hat sich auch die Pharmakologie von einer deskriptiven zur quantitativen Disziplin hin

Tabelle 2. *Empfohlene Reihenfolge der Operationen zur quantitativen Bestimmung unbekannter Substanzgemische durch Papierchromatographie.*



Zu 1. Zu 2. Zu 3. Zu 4. Zu 6.

1. *Schüttelversuch im Reagenzglas*
Auswahl eines geeigneten Lösungsmittel-Systems
2. *Eindimensionaler Versuch in Reagenzgläsern*
Endgültige Festlegung des Lösungsmittels, ungefähre R_F-Werte
3. *Mehrere zweidimensionale Versuche, Papier 30×30, mehrf. Aufst.*
Überprüfung von 2., Besprühen mit verschiedenen Farbreagenzien zur Auffindung von Beimengungen
4. *Eindimensionaler Vorversuch zur quantitativen Bestimmung*
Zerschneiden nach seitlicher Leit-Chromatographie, ungefähre Bestimmung
5. *Herstellung eines künstlichen Gemisches*
mit nur geringer (<20%) Abweichung der quantitativen Zusammensetzung
6. *Quantitative Papierchromatographie*
Serie von Chromat. steigd. Konzz., parallel künstl. Gemisch 5., Berechnung der Ausbeuten nach Test-Gemisch.

entwickelt. Ihre Berührungszonen mit den Nachbarwissenschaften, soweit sie in dem hier vorgegebenen Zusammenhang interessieren, zeigt Abb. 1, aus der auch die wichtigsten Aufgaben analytischer Verfahren im Bereich der Pharmakologie hervorgehen. Die Papierchromatographie verspricht besonderen Erfolg an den drei gekennzeichneten Stellen, für die nun im folgenden einige Beispiele angeführt werden.

Charakterisierung der Ausgangsstoffe für die Herstellung von Pharmaka; Kontrolle der Reinigung, Überprüfung der Einheitlichkeit der gereinigten Substanzen.

Für diese Aufgaben ist heute die Papierchromatographie vielfach die Methode der Wahl. Als Beispiel kann etwa das zweidimensionale Chromatogramm der hauptsächlichen *Curare-Alkaloide*[37] (Methanolextrakt einer venezolanischen Calebasse) dienen: man erkennt, daß hier die Selektivität der Papierchromatographie von einer anderen Methode kaum noch überboten werden kann. Ähnliche Erfolge erzielt man mit ihrer Hilfe bei der Reinheitskontrolle *anderer Alkaloide:* so berichten Munier u. Macheboeuf[31] über unterschiedliche R_F-Werte von 40 Alkaloiden in drei verschiedenen Lösungsmitteln. Für den Toxikologen bedingen die neuen Erfolge der Chemotherapie die Identifizierung einer

steigenden Anzahl basischer organischer Substanzen aus Eingeweiden usw. in kleinsten Mengen, eine Aufgabe, der die früheren Methoden (Farbreaktionen, Mikrokristallisation) nicht mehr gerecht werden können. In

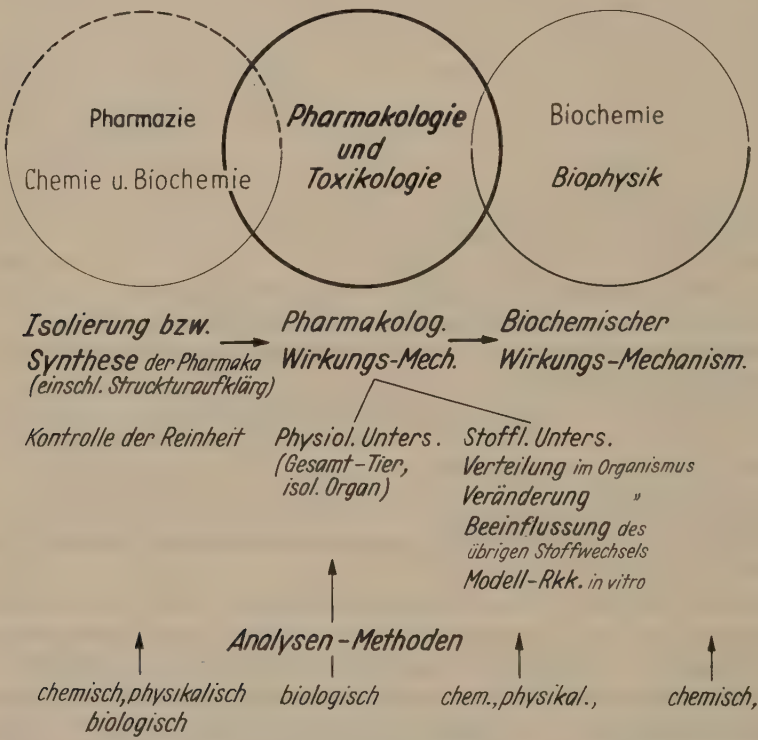


Abb. 1. Einordnung analytischer Verfahren in die Aufgabengebiete der Pharmakologie.

diesem Zusammenhang ist eine Arbeit von Curry u. Powell[9] anzuführen, in der nicht nur Alkaloide einer bestimmten Gruppe oder einer Arzneimittelkombination hinsichtlich ihrer papierchromatographischen Trennbarkeit erfaßt werden, sondern eine Übersicht über eine Vielzahl *basischer Substanzen* gegeben wird. Auch die Untersuchung von Jatzkewitz[20] über die Bestimmung *basischer Suchtmittel* im Harn durch Papierchromatographie weist in diese Richtung. Vgl. die Papierchromatographie einiger *Lokalanaesthetika* (Wagner[46]).

Ein gutes Beispiel für die Identifizierung der stofflichen Prinzipien *verschiedener pharmakologischer Wirkungen* durch Papierchromatographie mit ein und derselben Substanz bietet das *Oxytryptamin*. Die in Säugetierserum nach Blutgerinnung auftretende vasoconstrictorische, *Serotonin*[33] genannte Substanz: das von Erspamer schon 1940 als Bestand-

teil tierischer Gewebe aufgefundene *Enteramin*[11], das verschiedene glatte Muskeln zur Kontraktion führt und schließlich der atropinfest darmerregende *Wirkstoff DS* W. Vogts[45] erwiesen sich allesamt auf Grund papierchromatographischer Untersuchungen mit Oxytryptamin identisch.

Selbst *kleinste Mengen Ausgangsmaterial* genügen für die papierchromatographische Charakterisierung: so konnten Schindler u. Reichstein[36] (vgl. Papierchromatographie von Digitalisstoffen[18]) in einem einzelnen, 20 mg schweren Samen von Strophantus sarmentosus die herzwirksamen Inhaltstoffe durch Papierchromatographie aus Benzol-Chloroform an formamidgetränktem Papier identifizieren. Besondere Bedeutung erlangt diese Empfindlichkeit der Methode vor allem bei der Identifizierung radioaktiv markierter, z. B. durch Biosynthese gewonnener Pharmaka; ein typisches Beispiel ist die Isolierung von C^{14}-Digitoxin aus Digitalisblättern, die lange Zeit hindurch radioaktives Kohlendioxyd geatmet hatten. Gleichwertig ist die Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd, vgl. z. B. Okita[32]. Weitere Beispiele betreffen tuberculostatische Mittel (PAS[29], Isonicotinsäurehydrazid[24]), Flavone, nat. Farbstoffe, Gerbstoffe, Vitamine, Antibiotica usw.[49].

Untersuchungen zum pharmakologischen Wirkungsmechanismus.

Eine hervorragende Arbeit, die als mustergültiges Beispiel einer sauberen Untersuchung der Verteilung einer pharmakologisch wirksamen Substanz im Organismus mit Hilfe der Papierchromatographie gelten kann, ist die Untersuchung M. Vogts[44a] über die *Verteilung von Noradrenalin in verschiedenen Gehirnteilen*. Danach findet sich die höchste Konzentration an Noradrenalin im Hypothalamus und überraschenderweise in der Area postrema. Auch die Änderungen des Noradrenalingehalts in den einzelnen Gehirnabschnitten unter dem Einfluß von Pharmaka wurde papierchromatographisch geprüft. Die physiologisch-pharmakologischen Folgerungen dieser Feststellungen sind hier nicht zu diskutieren; vom methodischen Standpunkt interessiert vor allem die Zuverlässigkeit der Methode und die einzuhaltenden Kautelen. Wie Chromatogramme mit Phenol/Salzsäure zeigen, tritt in den äthanolisch-salzsauren Extrakten aus Gehirnteilen eine ganze Reihe biologisch hochaktiver Substanzen auf, die mit der biologischen Auswertung von Noradrenalin interferieren können. Unter ihnen stört *Histamin* in den im Gehirn vorliegenden kleinen Konzentrationen nicht; *5-Oxytryptamin*, das nach Gaddum[8] in den einzelnen Gehirnregionen ähnlich wie das Noradrenalin in unterschiedlicher Konzentration verteilt ist, überdeckt zum Teil die Noradrenalinzone; *Acetylcholin*, das diffus über das Chromatogramm verteilt ist, wird bei der biologischen Testung durch Atropin ausgeschaltet; die Polypeptide wie *Substanz P* und die *Hypophysenhormone*

wandern fast mit der Lösungsmittelfront und stören daher nicht. Daneben aber fanden sich vereinzelt depressorisch wirkende, unbekannte Substanzen in der Noradrenalinzone. Es scheint, als ob die Vorschaltung einer Papierionophorese manche dieser Unsicherheiten ausgeschaltet hätte. Die vorbildliche Identifizierung des Noradrenalin erfolgte auf Grund folgender Teste: Identität von R_F-Wert und zugehöriger pressorischer Wirkung; identische Alkaliresistenz wie Noradrenalin, das man Gehirnextrakt zugesetzt hatte; Hemmbarkeit des biologischen Effekts durch Dibenamin; Übereinstimmung mit einem authentischen Vergleichspräparat bei der quantitativen fluorimetrischen Bestimmung. — Eine Arbeit ähnlicher Zielsetzung ist die Bestimmung der Verteilung der *Hypophysenhormone Oxytocin und Vasopressin*[44b] im Hypothalamus von Versuchstieren, die von der gleichen Autorin durch Papierchromatographie untersucht wurde. Auch hier ist übrigens nach eigenen Versuchen mit R. Hausmann die Vorschaltung einer Papierionophorese vor Ausführung der Papierchromatographie von großem Vorteil.

Eine wichtige Aufgabe der Pharmakologie nächst der Bestimmung der Verteilung ist die Untersuchung der *chemischen Veränderungen des Pharmakons im Stoffwechsel*. Unter diesem Gesichtspunkt lassen sich zwei Gruppen von Stoffen unterscheiden, nämlich solche, die im Stoffwechsel wie Chloralhydrat oder Acetanilid *aktiviert*, und solche, die wie viele Barbiturate und Sulfonamide *inaktiviert* werden.

Noch 1949 hatten Maynert u. van Dyke (vgl. dazu auch den Stoffwechsel von Antiepileptica[41]) in einer Übersicht über den Stoffwechsel der Barbiturate auf die Unsicherheit der bisherigen Ergebnisse hingewiesen und als Gründe dafür den Spezifitätsmangel der verwandten Methoden und die Schwierigkeit und Umständlichkeit der Isolierung der Metaboliten angeführt. Die bis dahin allgemein gehandhabte Methode, nach Extraktion mit geeigneten Lösungsmitteln die quantitative Bestimmung solcher Pharmaka durch Messung der Extinktion im UV durchzuführen, litt unter dem Mangel, daß die Wellenlänge des Extinktionsmaximums für verschiedene Metaboliten verschieden war und sich mit dem p_H in unterschiedlicher Weise änderte; so ist es zu erklären, daß man gelegentlich nur einen geringen Bruchteil der eingesetzten Menge wiederfand. Dieser Mangel kann durch Trennung der einzelnen Stoffwechselprodukte mittels Papierchromatographie behoben werden. Das Mittel der Wahl ist die radioaktive Indizierung des Pharmakons, um Ab- und Umbauprodukte, deren Art man im vorhinein ja nicht kennen kann, unabhängig von chemischen Veränderungen nachweisen zu können. Auf diese Weise hat man den Stoffwechsel des kurz wirkenden *Pentothals*[40] nach Markierung mit radioaktivem Schwefel zu studieren begonnen; die Auswertung der einzelnen Zonen typischer Chromatogramme erwies das Vorliegen einer ganzen Reihe von Stoffwechselzwischenprodukten. Auch

Untersuchungen mit *C^{14}-Pentobarbital*[1] ergaben auf Grund einer papierchromatographischen Analyse das Auftreten von mindestens 5 Metaboliten, von denen aber keiner mit dem früher vermuteten Abbauprodukt Harnstoff identisch war[2]. Interessanterweise bildet die Seitenkette des kurzwirksamen Thiobarbiturats eine Carbonsäure, die des länger wirkenden Barbiturats einen optisch aktiven Alkohol, nämlich 5-Äthyl-5-(3-Oxy-1-methylbutyl)-Barbitursäure als Stoffwechselzwischenprodukt[5]. Dieses Beispiel führt über den pharmakologischen Wirkungsmechanismus hinaus bereits in das Gebiet des *biochemischen Wirkungsmechanismus*[12]. Welche *Bedeutung solche Untersuchungen für die Therapie* haben, ergibt sich aus der Tatsache, daß die Wirkungsdauer der Barbiturate wesentlich von der Überführung in Metaboliten begrenzt wird. Bei Sulfonamiden[26, 47], deren Papierchromatographie neuerdings beschrieben wird, ist die Dauer und Art der pharmakologischen Wirkung von ihrer Acetylierung mitbedingt, wodurch diese Stoffe nicht nur inaktiviert, sondern häufig auch in ihrer Löslichkeit verändert werden. — Der *pharmazeutischen Industrie* helfen solche Befunde bei der *Sichtung verschiedener neuhergestellter Derivate* therapeutisch wichtiger Stoffe; denn nur, wenn das neue Derivat nicht vor Erreichung des Wirkungsortes in den Grundkörper zurückverwandelt oder aber besser verteilt wird als dieser, ist seine Verwendung sinnvoll.

Ähnliche Versuche betreffen den Stoffwechsel von *C^{14}-Adrenalin*[6] und *C^{14}-Histamin*[35] und die papierchromatographische Erfassung der zahlreichen Ab- und Umbauprodukte. Auch die barbituratverwandten *Purine*, namentlich ihre Phosphatester wie *AMP, ADP und ATP* haben im Zusammenhang mit der Muskelpharmakologie eingehendes Studium mittels papierchromatographischer Methoden erfahren; so hat Herr Dr. G. Lange an unserem Institut die Veränderungen der Adeninnucleotide in glatter Muskulatur unter dem Einfluß der durch Acetylcholin ausgelösten Kontraktion und der von Papaverin verursachten Erschlaffung mit Hilfe der Papierchromatographie untersucht; eine Vortrennung durch Hochspannungsionophorese erwies sich dabei als besonders günstig[23]. Schließlich sei auf Untersuchungen über das Verhalten von C^{14}-Digitoxin im Organismus verwiesen, bei denen man Anhaltspunkte für das Auftreten von Metaboliten erhielt[13]; die Papierchromatographie wird auf Grund eigener Erfahrungen auch bei diesem Problem zu Fortschritten führen[38].

Der sensationelle Befund, wonach neben Thyroxin ein stärker wirksames Schilddrüsenhormon, nämlich *Trijodthyrosin* vorkommt, wurde von Gross u. Pitt—Rivers[17] sowie Roche u. Mitarb.[34] unabhängig mit Hilfe der Papierchromatographie erhoben; das sogenannte „aktive" Thyroxin, das gegenüber Adrenalin sensibilisiert, erwies sich papierchromatographisch identisch mit den Decarboxylierungsprodukten

Thyroxamin bzw. Trijodthyronamin, wobei letzteres wiederum 5—8mal stärker wirkt[22].

Grenzen der Papierchromatographie.

Zeigen die bisherigen Beispiele die geradezu frappierende Leistungsfähigkeit der Papierchromatographie, so müssen doch auch ihre Grenzen betont werden. Die Übereinstimmung der R_F-Werte zweier Substanzen in einem oder wenigen Lösungsmitteln ist kein schlüssiger Beweis ihrer Identität. Wenn etwa in einer neueren Untersuchung[25] über das vermutliche Auftreten von *N-Isopropyl-Noradrenalin* auf Grund des R_F-Wertes in einem einzigen Lösungsmittel (0,7 in Phenol-Salzsäure), der Farbreaktion mit Ferricyanid und des biologischen Testes sowie der Verschiedenheit von Lactyl-Noradrenalin die Identität des Extraktstoffes mit dem synthetischen Produkt erschlossen wird, so ist demgegenüber die Notwendigkeit der mikropräparativen Isolierung (z. B. durch Verwendung dicken Filterpapiers) und *eindeutiger Kennzeichnung* der Substanz durch die sogenannten „*klassischen Kriterien*" hervorzuheben. Oft wird eine Substanz erst nach Ermittlung ihrer R_F-Werte in einer großen Vielzahl von Lösungsmitteln als unterschiedlich von einer chemisch verwandten Verbindung erkannt. *Hartnäckige Begleitstoffe* können die R_F-Werte konstant fälschen. Von der Abwesenheit solcher Stoffe wird man sich bei biologischen Extrakten durch Zusatz der vermuteten Substanz zum natürlichen Gemisch und erneutes Bestimmen ihres R_F-Wertes überzeugen müssen. Beim Vorliegen *extrem kleiner Konzentrationen*, wie sie oft biologisch noch nachweisbar sind, kommt es häufig zur *Assoziation* verschiedener Stoffe und damit zur Verschiebung der R_F-Werte. Weiter sollten bei der Vorbereitung der zu trennenden Substanzen die bewährten Methoden der Anreicherung und Reinigung bzw. der Entfernung von Begleitstoffen, insbesondere von Salzen, durch *Extraktion mit Lösungsmitteln*, *Fällung mit spezifischen Reagentien* usw. nicht vernachlässigt werden. Auch ist die Papierchromatographie mit anderen Methoden, wie der *Adsorption*, dem *Ionenaustausch*, der *Gegenstromverteilung* und vor allem der *Ionophorese* praktisch so innig verflochten, daß nur in Kombination mit diesen Verfahren die besten Leistungen erzielt werden können; auf einige charakteristische Fälle wurde in den voranstehenden Beispielen hingewiesen. — Gerade wegen der Vorteile, welche die Papierchromatographie auszeichnen, sollte man ihre Grenzen mehr beachten als dies häufig der Fall ist. Die Analysensubstanzen sind dabei auf eine große Oberfläche verteilt (was eine wesentliche Voraussetzung für die Linearität der Isothermen und die gute Trennbarkeit bildet) und unterliegen darum leicht der *Zersetzung durch Licht*, *Sauerstoff* usw. Mit empfindlichen Fluorescenzmethoden oder Isotopen läßt sich zeigen, daß in den meisten Fällen *Schwänze* hinter jedem Substanzfleck bis zur Auf-

gabestelle laufen; nur die Empfindlichkeit der Nachweismethoden täuscht eine exakte Trennung vor; das gilt in besonderem Maß für die Photoprintmethoden. Für *exakte quantitative Analysen* ist das *Säulenverfahren* unbedingt vorzuziehen, bei dem man außerdem Lösungsmittel spart und die Strömungsgeschwindigkeit beliebig regeln kann. Für *qualitative* und *halbquantitative* Zwecke sowie für *Reihenversuche* ist dagegen die Papierchromatographie die Methode der Wahl.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Papierchromatographie dem Pharmakologen eine kaum abzusehende Fülle relativ müheloser experimenteller Möglichkeiten bietet. Das Können des Untersuchers erweist sich allerdings mehr als bei der eigentlichen Chromatographie bei der Vorbereitung der Substanzen zur Analyse und bei der eindeutigen Identifizierung der bereits getrennten Stoffe, wozu in extrem schwierigen Fällen das gesamte Rüstzeug der modernen Chemie und Physik, wie Ultrarot- und Ultraviolettspektren, die Röntgenstrukturanalyse, elektrochemische, insbesondere polarographische Verfahren und spezifische chemische und biochemische Reaktionen notwendig sein können; doch nimmt dies der papierchromatographischen Methode selbst nichts von ihrer bestechendsten Eigenschaft, ihrer unübertroffenen Einfachheit.

Literatur.

[1] Algeri, E. J., and A. J. MacBuy: Amer. J. Clin. Path. **23**, 654 (1953) — [2] zur Papierchromatographie von Barbituraten vgl. auch A. Crieg: Nature (Lond.) **170**, 845 (1952). — [3] Block, R. J.: Paper Chromatography, Acad. Press Inc. New York (1952). — [4] Böhm, M., u. L. Fuchs: Naturwissenschaften **40**, 244 (1953) (quantitative Eluierbarkeit von Mutterkornalkaloiden aus Filterpapier mittels Farbreagentien). — [5] Brodie, B. B., J. J. Burns, L. C. Mark, Ph. A. Lief, E. Bernstein and E. M. Pappen: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **108**, 26 (1953). — [6] Bush, J. E.: J. Gen. Physiol. **115**, 12 P (1951). — [7] Consden, R., A. H. Gordon and A. J. P. Martin: Biochemic. J. **38**, 224 (1944). — [8] Crawford, T. B., and J. H. Gaddum: Abstr. XIX. Int. Congr. Physiol. S. 165. — [9] Curry, A. S., and H. Powell: Nature (Lond.) **173**, 1143 (1954). — [10] Decker, P.: Naturwiss. **38**, 287 (1951). — [11] Erspamer, V.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 344 (1940). — [12] Fieser, L. F., u. Mitarb.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **94**, 85 (1948) (Oxydation von Seitenketten b. Antimalariamitteln). — [13] Fischer, C. S., A. Sjoerdsma and R. Johnson: Circulation **5**, 496 (1952). — [14] Fischer, F. G., u. M. Dörfel: Biochem. Z. **324**, 544 (1953). — [15] Fourth Annual Review of Analytical Chemistry, reprinted from: Anal. Chem. **24** (1952). — [16] Goppelsröder, F.: Dinglas Polytechn. J. **164**, 212 (1862). — [17] Gross, J., and R. Pitt-Rivers: Biochemic. J. **53**, 645 (1953). — [18] Habermann, E.: Arzneimittel-Forsch. **3**, 30 (1953). — Hassall, C. H. u. a.: J. Chem. Soc. (Lond.) **1951**, 2766. — Heftman, E., and A. J. Levant: J. of Biol. Chem. **194**, 703 (1952). — Jensen, K. B.: Acta Pharm. Scand. **18**, 110 (1952). — Acta Pharm. Toxikol. **9**, 95 (1953); (Papierchromatographie von Digitalisstoffen). — [19] Heftman, E., and A. L. Hayden: J. of Biol. Chem. **197**, 47 (1952). — [20] Jatzkewitz, H.: Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. **292**, 94 (1953). — [21] Kalkwarf, D. R., u. A. A. Frost: Anal. Chem. **26**, 191 (1954). — [22] Lachaze, A., and O. Thibault: Bull. Soc. Chim. Biol. **33**, 1458 (1951). — [23] Lange, G.: Biochem. Z. im Druck. Experientia (Basel) X, 268 (1954). [24] Leuschner, F.: Arch.

exper. Path. u. Pharmakol. **221**, 323 (1954). — [25] Lokett, M. F.: J. Physiol. **124**, 7 P (1954). — [26] Longenecker, W.: Anal. Chem. **21**, 1402 (1949). — [27] Markham, R., and J. D. Smith: Biochemic. J. **45**, 294 (1949). — [28] Martin, A. J. P., and R. L. M. Synge: Biochemic. J. **35**, 1358 (1941). — [29] Miyaki, K., and M. Hayashi: J. Pharmaceut. J. Japan **72**, 842 (1952). — [30] Mueller, J. H.: Science (Lancaster, Pa.) **112**, 405 (1950). (Methode des „Ventilstreifens".) — [31] Munier, R., and M. Macheboeuf: Bull. Soc. Chim. biol. **31**, 1144 (1949); **32**, 192 (1950); **33**, 846, 857 (1951). — [32] Okita, G. T., F. E. Kelsey, J. Walaszek u. E. M. K. Geiling: J. Pharmacol. Exper. Ther. **110**, 244 (1954). (Gleichwertiges Verfahren der Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd.) — [33] Rapport, M. M., A. A. Green and J. H. Page: J. of Biol. Chem. **176**, 1243 (1948); **180**, 961 (1949); vgl. Woolley, D. W.: Brit. Med. J. **1954**, 122. — [34] Roche, J., S. Lissitzky and R. Michel: Biochim. et Biophysica Acta **11**, 220 (1953). — [35] Schayer, R. W.: J. Biol. Chem. **196**, 475 (1952). — [36] Schindler, O., and T. Reichstein: Helv. chim. Acta **34**, 108 (1951). — [37] Schmid, H., and P. Karrer: Helvet. chim. Acta **33**, 512 (1950). — [38] Scholtissek, Ch.: unveröffentlichte Versuche. — [39] Schönbein, C. F.: Naturwiss. Ges. Basel **3**, 249 (1861). — [40] Taylor, J. D., R. K. Richards and D. L. Tabern: J. Pharmacol. Exper. Ther. **104**, 93 (1952). — [41] Toman, J. E. P., u. J. D. Taylor: Arzneimittel-Forsch. **4**, 175 (1954). (Stoffwechsel von Antiepileptica.) — [41a] Tswett, M.: Ber. dtsch. bot. Ges. **24**, 384 (1906). — Works Warsaw Soc. Natural Sci. biol. sect. **14**, minutes Nr. 6 (1903). — [42] Turba, F.: Chromatographische Methoden in der Proteinchemie. Berlin: Springer 1954. — [43] Du Verdier, C. H., ed G. Ågren: Acta chem. scand. (Copenh.) **2**, 783 (1948). — [44] Vogt, M.: J. of Physiol. a) **123**, 451 (1954); b) Brit. J. Pharmacol. **8**, 153 (1953). — [45] Vogt, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 203 (1952); **222**, 427 (1954). — [46] Wagner, G.: Arch. Pharmaz. **186**, 232 (1953). — [47] Wankmüller, A.: Naturwissenschaften **40**, 57 (1953). (Papierchromatographie von Sulfonamiden.) — [48] Weil, H., u. T. J. Williams: Naturwissenschaften **40**, 1 (1953). — Angew. Chemie **63**, 467 (1951). — [49] Wieland, Th., u. F. Turba: Houben-Weyl „Methoden der organ. Chemie". G. Thieme 1953, Bd. 2, S. 869—909. — [50] Woodward, Ch. C., u. G. S. Rabideau: Anal. Chem. **26**, 248 (1954).

Diskussion.

Baumgarten (München): Wir haben uns in München an der II. Med. Klinik damit beschäftigt, Spuren von Gewebshormonen direkt aus Papierchromatogrammen nachzuweisen. Zu diesem Zwecke entwickelten wir besonders empfindliche biologische Testverfahren, die kleinste absolute Mengen von Wirkstoffen in einem oder wenigen Tropfen Flüssigkeit nachzuweisen gestatten. Ein solches Testobjekt ist der Sinus venosus des Froschherzens. Man legt Blättchen aus wirkstoffhaltigen Zonen von Papierchromatogrammen direkt auf den Sinus und registriert die Herzfrequenz mit einem Ordinatenschreiber. Auf diese Weise lassen sich Acetylcholinmengen bis herab zu $5 \cdot 10^{-10}\,\gamma$ quantitativ und reproduzierbar nachweisen. Auch für die biologische Analyse von Adenylsäurederivaten, Cholin und anderen biogenen Aminen ist dieses Verfahren geeignet. — Zur direkten biologischen Auswertung wirkstoffhaltiger Zonen von Papierchromatogrammen entwickelten wir ferner das durchblutete Froschherz in situ. Es gestattet beispielsweise, Acetylcholin bis herab zu $5 \cdot 10^{-7}\,\gamma$ quantitativ und reproduzierbar nachzuweisen. Da das Präparat pro Testung bei Injektion in die Vena cava caudalis nur 0,05 cm³ Flüssigkeit benötigt, kann man in geringsten Flüssigkeitsmengen die Teile zweidimensionaler Papierchromatogramme extrahieren, in denen man Wirkstoffe vermutet. Aus dem pharmakologischen Verhalten der Wirkstoffe und aus

ihrem R_f-Wert sind Rückschlüsse auf ihre Natur möglich. Noch unbekannte Wirkstoffe lassen sich mit dieser differenzierenden „biologischen Mikroanalyse" charakterisieren und ihrer chemischen Aufklärung zuführen. Außerdem lassen sich unspezifische biologische Testverfahren durch die Kombination mit der Papierchromatographie weitgehend spezifisch gestalten, und zwar wie folgt: Spricht die pharmakologische Analyse bereits für das Vorliegen eines bestimmten Wirkstoffes, so handelt es sich mit der größten Wahrscheinlichkeit um diesen Faktor, wenn er im Bereich des für ihn charakteristischen bekannten R_f-Wertes auffindbar ist.

Unseres Erachtens lassen sich die hier angedeuteten methodischen Grundsätze ganz allgemein auf zahlreichen Gebieten der Forschung anwenden. Weitere Untersuchungen und ausführliche Veröffentlichungen, gemeinsam mit P. Decker, folgen.

Vogt (Göttingen): Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, als Lösungsmittel für die Papierchromatographie Wasser zu verwenden. Damit können z. B. Histamin und Serotonin, die am Start bleiben, von pharmakologisch aktiven Polypeptiden, wie Substanz P oder Bradykinin, die weit ins Chromatogramm laufen, getrennt werden.

Fleckenstein (Heidelberg): Der Herr Referent hat darauf aufmerksam gemacht, daß unter Umständen wiederholte Anwendung des gleichen Lösungsmittels von Nutzen sein kann. Diese Angabe deckt sich mit eigenen Erfahrungen bei der Trennung von ATP und ADP. Nach 24stündiger Anwendung des II. Lösungsmittels (Fleckenstein u. Janke, Pflügers Arch. 258, 177 (1953) ist die Trennung von ATP und ADP häufig noch nicht vollständig. Wendet man das gleiche Lösungsmittel nach Trocknung der Chromatogramme ein zweites Mal an, so ist die Trennung nach 12—20 Std stets vollständig. Die zweimalige Anwendung des Lösungsmittels ist wirkungsvoller als einmalige Anwendung über eine Gesamtdauer von 36 bis 44 Std.

Schlußwort Turba: Zu Baumgarten: In der Literatur sind zahlreiche Beispiele biologischer Auswertung von Papierchromatogrammen beschrieben. Zu berücksichtigen ist allerdings, daß bei extrem kleinen Konzentrationen häufig Assoziierung der biologisch aktiven Substanz mit anderen Komponenten durch Adsorption usw. eintritt und die Trennung verwischt oder ganz verhindert (Referat S. 76).

Zu Vogt: Aromaten lassen sich häufig aus wäßrigen Lösungen trennen, Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin z. B. aus verdünnter HCl. Bei ionisierenden Stoffen sind wäßrige Pufferlösungen vorzuziehen.

C. Einzelvorträge.

G. Malorny und F. K. Ohnesorge (Kiel): Zur Wirkungsweise synthetischer Morphinanderivate.

Die Synthese des N-Methylmorphinan durch Grewe im Jahre 1946 ermöglichte die Darstellung zahlreicher neuer Stoffe von morphin- und codeinartigem Charakter. Wir prüften die Tartrate der folgenden Morphinanderivate auf ihre pharmakologische Wirksamkeit: (—)-3-Oxy-N-methylmorphinan (im Handel als Dromoran), (+)-3-Oxy-N-methylmorphinan, (—)-3-Methoxy-N-methylmorphinan und (+)-3-Methoxy-N-methylmorphinan. Wir untersuchten ferner die sog. Morphinantagonisten, auf die Unna (1943) und neuerdings Fromherz u. Pellmont (1952) die Aufmerksamkeit lenkten. Es handelte sich um die folgenden Präparate: (—)-3-Oxy-N-allylmorphinan (Ro 1-7700), (—)-3-Oxy-N-propargylmorphinan (Ro 1-7780) und das schon länger bekannte N-Allyl-normorphin (Lethidrone W.Z., Nalline).

Beim Vergleich mit Morphin, Codein und Thebain ergab sich, daß die linksdrehende Verbindung des 3-Oxy-N-methylmorphinan weitgehende Ähnlichkeit mit Morphin und die rechtsdrehende Form des 3-Methoxy-N-methylmorphinan mit Codein zeigte. Die linksdrehenden N-Allyl- und N-Propargyl-Derivate des 3-Oxymorphinan wirkten auf die Reflextätigkeit antagonistisch wie Thebain, zeigten aber gegenüber den übrigen Morphinwirkungen eine sichere antagonistische Wirksamkeit und eine geringere Toxicität als Thebain.

Im einzelnen zeigte sich, daß der homolaterale Beugereflex der decerebrierten Katze durch 0,2 mg/kg Dromoran auf etwa 50% der Ausgangslänge vermindert wird, ähnlich wie durch 3 mg/kg Morphin. Die rechtsisomere Form ist in weitem Dosenbereich wirkungslos. (+)-3-Methoxy-N-methylmorphinan wirkt reflexsteigernd. Die Morphinantagonisten beseitigen in kleinen Dosen (0,1—0,5 mg/kg) die Reflexlähmung nach Morphin und Dromoran augenblicklich. Die Spontanatmung der decerebrierten Tiere, die unter dem Einfluß der lähmenden Stoffe in der Regel verschwunden ist, kehrt bei gleichzeitiger Normalisierung des Blutdrucks zurück. — Interessanterweise gelingt es, durch die Morphinantagonisten auch die durch Luminal oder Pernocton hervorgerufene Reflexlähmung schlagartig aufzuheben. Die Atmungsdepression nach Barbitursäurederivaten wird weniger stark beeinflußt.

Bei der Prüfung der Schmerzschwelle am Hundezahn nach dem Vorgehen von Koll und Reffert (1938) erweisen sich 3 mg/kg Morphin

wirkungsgleich mit etwa 1—2 mg/kg Dromoran. Bei kleineren Vergleichsdosen sind die Wirkungsunterschiede ausgeprägter. Die Analgesie hält 4—6 Std an. Injiziert man 1 Std nach Eintritt der Analgesie 0,5—1,0 mg/kg (—)-3-Oxy-N-Propargylmorphinan, so sinkt die Schmerzschwelle rasch bis fast zur Norm. Neben einer mächtigen Anfachung der Atmungstätigkeit übt der Antagonist auch einen deutlichen Weckreiz aus. Hierbei ist noch zu betonen, daß die Dosis, die die Analgesie beseitigt, um ein Mehrfaches höher liegt als die zur Anregung der Atmung erforderliche Gabe. Durch diese Versuche bestätigen wir die Befunde anderer Untersucher an anderen Prüfobjekten. Überraschenderweise hebt Thebain in einer Dosierung von 1—3 mg/kg die Morphinanalgesie nicht auf.

Die antagonistische Wirkung des Propargylderivats Ro 1-7780 erstreckt sich auch auf die Morphinerregung der Maus. Verabfolgt man einer Maus, die durch 10 γ/g Morphin in einen stundenlangen, zentralbedingten Erregungszustand versetzt wurde, 1 γ/g des Antagonisten, so klingt die Erregung fast augenblicklich ab. Der beschriebene Effekt läßt sich bei Anwendung der Methode von Westerman (1951) quantitativ auswerten.

Das Atemminutenvolumen der Katze wird durch 3—8 mg/kg Morphin stark vermindert und dementsprechend auch die Gewebeventilation verschlechtert. Im Gegensatz zum Thebain erweisen sich das (—)-N-Allyl- und (—)-N-Propargylderivat des 3-Oxy-morphinan in einer Dosierung von 0,2 mg/kg als gute Antagonisten.

Literatur.

Fromherz, K., u. B. Pellmont: Experientia (Basel) 8, 394 (1952). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 218, 136 (1953). — Grewe, R.: Naturwissenschaften 1946, 333. — Koll, W., u. H. Reffert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 190, 687 (1938). — Westerman, G.: Inaug.-Diss. Kiel 1950.

Diskussion. Enders (Memmingen): Hohe Dosen von Morphin wirken beim Kaninchen atmungsstimulierend. Was ist über die Wirkung der Morphinantagonisten auf diesen Effekt bekannt?

Koll (Göttingen): Die Wirkung der starken Analgetica auf die multisynaptischen Spinalreflexe muß anders als die analgetische Wirkung beurteilt werden. Cardiazol wirkt *nicht* antagonistisch auf die analgetische Wirkung, während es die durch starke Analgetica verminderten multisynaptischen Spinalreflexe (des durch Querschnitt isolierten Rückenmarkes) steigert. (Dissertation Block, Göttingen.)

Wirth (Wuppertal-Elberfeld): Nach eigenen Versuchen hat d-3-Oxy-N-methylmorphinan eine nachweisbare leichte analgetische Wirkung (Mäuseschwanztest mit Wärmestrahl, Twitch-Test am Meerschweinchenrücken, Hundezahn nach Koll und Reffert). Dies wirkt sich bei der Racem-Verbindung aus: Sie ist etwas stärker analgetisch wirksam als eine halbe Dosis der l-Verbindung.

Kiese (Marburg): Warum wird unter der Morphinwirkung der CO_2-Druck im Gewebe erhöht, der O_2-Druck aber nicht beeinflußt?

Unna (Chicago) fragt, ob die neuen Morphin-Antagonisten des Vortragenden eigene analgetische Wirkungen und atmungszentrumlähmende Wirkungen besitzen.

Schlußwort. Malorny zu Enders: Beim Kaninchen besteht in allen Stadien der Morphinvergiftung, also auch im Stadium der Reflexübererregbarkeit, eine schwere Atemdepression. Sie wird durch die Morphinantagonisten aufgehoben.

Zu Wirth: Beim Hund haben wir erst nach hohen Dosen von (+)-3-Oxy-N-methylmorphinan schwache analgetische Effekte gesehen.

Zu Kiese: Wegen der selektiven Wirkung des Morphins auf die Atmung steigt in den Gewebsgasen pCO_2 schneller und stärker an, als pO_2 abfällt. Der letztere Effekt ist wahrscheinlich durch eine Herabminderung des oxydativen Stoffwechsels bedingt.

Zu Unna: Die beiden Morphinantagonisten, die sich vom 3-Oxymorphinan ableiten, zeigen bei den Dosen, die die erniedrigte Atmung anregen, außer einer mäßigen Reflexsteigerung keine Eigenwirkungen (0,2 mg/kg). Am Hundezahn wirken sie in 15fach höherer Dosierung schwach analgetisch; die Atmung des Kaninchens wird jedoch nicht depressiv beeinflußt.

M. Kramer (Berlin): Biochemische und pharmakologische Differenzierung der Wirkung ödemerzeugender Substanzen.

Bei der Prüfung antiphlogistisch wirksamer Pharmaka an der Eiklar- und Dextranhyperergie der Ratte fiel auf, daß einige Pyrazolonderivate wohl das Eiklarödem, nicht aber das Dextranödem zu beeinflussen vermochten. Das Dextranödem wurde durch 200 mg/kg Pyramidon, eine Dosis, bei der ein Teil der Tiere bereits Krämpfe bekam, kaum beeinflußt, das Eiklarödem wurde um 50% gehemmt. Beim Irgapyrin hemmten 100 mg/kg intramuskulär das Eiklarödem um etwa 85%, während das Dextranödem von 100 und 200 mg/kg nicht beeinflußt wurde. Nach 50 bis 150 mg/kg Procainamid[1] hatte das Eiklarödem nur noch eine Intensität von etwa 15% der Kontrollen, während die des Dextranödem kaum beeinflußt wurde. Die Dextrantiere zeigten nach Vorbehandlung mit Procainamid eine auffallend starke Cyanose, die in der Stärke sonst nicht beobachtet wurde. Durch 10 mg/kg Megaphen[1] wurden beide Ödemarten vollständig gehemmt.

Diese Befunde müssen einmal mit der Annahme verschiedener Entstehungsmechanismen der beiden Ödemarten und zweitens mit der eines verschiedenen Angriffspunktes der zur Ödemhemmung benutzten Substanzen gedeutet werden. Um die Frage eines zentralen Angriffspunktes der Ödemauslösung zu untersuchen, wurde an 30 decerebrierten Ratten versucht, durch Dextran Ödeme auszulösen. Das gelang bei drei Tieren. Damit ist gezeigt, daß die Auslösung generalisierter Ödeme ohne Vorhandensein des Groß- und Mittelhirns grundsätzlich möglich ist.

[1] Diese Versuche wurden zusammen mit D. Maibauer durchgeführt.

Vor einiger Zeit stellte Ungar die Hypothese auf, daß bei anaphylaktoiden oder Antigen-Antikörperreaktionen im Serum und in Gewebszellen ein proteolytisches Ferment, das Profibrinolysin, über ein Komplement aktiviert wird und dann entzündungserregende Substanzen freisetzt. Ungar und Mitarbeiter konnten eine Aktivierung des Profibrinolysins unter anderem durch Pepton und Antigen-Antikörperreaktionen im Meerschweinchen- und Rattenserum in vitro nachweisen. In den folgenden Untersuchungen habe ich geprüft, ob derartige Versuche geeignet sind, zur Klärung der Unterschiede in der Beeinflußbarkeit des Dextran- und Eiklarödems beizutragen.

Da man nach den Angaben von Ungar und auch nach eigenen Erfahrungen im Meerschweinchenserum erheblich höhere Fermentaktivitäten erzielt als im Rattenserum, wurde zunächst versucht, das Profibrinolysin im Meerschweinchenserum zu aktivieren. Die Aktivität des Fibrinolysins wurde nach Ungar und Mist bestimmt. Zur Aktivierung wurde ein Dextran vom Mol.-Gewicht 50000 verwandt, womit auch die Ödemversuche an Ratten durchgeführt worden waren. Außerdem wurde das die Ödementstehung bewirkende Protein im Hühnereiweiß, Ovomucoid, geprüft, das mir Herr Prof. Westphal liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt hatte. Ferner wurde Pepton benutzt, das in den Versuchen von Ungar am wirksamsten war. In jeder Versuchsreihe lief eine Kontrolle, bei der die Serumprobe nur mit gepufferter Salzlösung incubiert wurde.

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, daß mit Ovomucoid eine erhebliche Aktivierung erzielt werden konnte, während Dextran unwirksam war. Pepton war weniger wirksam als Ovomucoid. In den letzten Versuchen wurde der Stickstoffgehalt der Fermentlösungen bestimmt und wie die Aktivitäten pro Kubikzentimeter Serum berechnet. Bei den mit Dextran incubierten Serumproben war der Stickstoffgehalt der gewonnenen Fermentlösung etwas geringer. Die Differenzen zwischen den gefundenen Aktivitäten waren jedoch so erheblich, daß sie mit der Annahme einer verschieden starken Fällung der fermenthaltigen Globulinfraktion nicht erklärt werden können.

Die vorgetragenen Befunde sprechen dafür, daß die Entzündungsreaktionen in diesen Modellversuchen, auch wenn sie das gleiche Erscheinungsbild bieten, keinen einheitlichen Entstehungsmechanismus haben. Die von Ungar vertretene Hypothese, daß eine anaphylaktoide oder Entzündungsreaktion als Folge einer Aktivierung des Profibrinolysins anzusehen sei, trifft offenbar für das Dextranödem nicht zu. Durch intraperitoneale oder intravenöse Injektionen auch hoher Dosen Streptokinase, einem Profibrinolysin aktivierenden Ferment, gelang es nicht, an Ratten generalisierte Ödeme auszulösen. Auch dieser Befund spricht gegen eine allgemeine Gültigkeit der Ungarschen Theorien.

Literatur.

Ungar, G.: Internat. Arch. Allergy a. appl. Immunol. 4, 258 (1953). — Ungar, G., and S. H. Mist: J. of Exper. Med. 90, 39 (1949).

Diskussion. Domenjoz (Homburg): 1. Wichtig für den Grad der Entzündungshemmung ist die Menge des injizierten Phlogistikums. Eine Reihe schwach wirkender Antiphlogistika kann in ihrer Wirkung nur erfaßt werden, wenn die Entzündung durch kleine Mengen Dextran ausgelöst wurde. Bei Verwendung größerer Dextranmengen entsteht eine massive Schwellung, die unter Umständen nicht mehr gehemmt werden kann.

2. Nach Rückenmarksdurchschneidung zwischen Th_{II} und L_I bildet sich bei der Ratte das Formalinödem nicht mehr im gleichen Maße aus wie am normalen Tier. Hieraus muß auf das Bestehen wichtiger Afferenzen (auch am narkotisierten Tier) für die entzündliche Schwellung geschlossen werden.

Herken (Berlin-Dahlem): Herr Kramer hat seine Untersuchungen an nichtnarkotisierten Tieren vorgenommen. Dies erklärt sicher manche Unterschiede zu den Befunden von Domenjoz, der bei einigen Substanzen bessere Effekte sah. Daraus folgt, daß die Narkotica ebenfalls einen Einfluß auf das durch Ovomucoid und Dextran hervorgerufene Ödem der Ratte ausüben. Es ist daher notwendig, bei solchen Untersuchungen grundsätzlich auf die Narkose zu verzichten.

Alberty (Helsinki): 1. Wenn man das Ovomucoid- oder Dextranödem der Ratte als „allergische Entzündungsreaktion" bezeichnet, dann setzt man damit voraus, daß dieser Reaktion eine Antigen-Antikörper-Reaktion zugrunde liegt. Welche Anhaltspunkte bestehen für die Annahme, daß die Ratte spezifische Antikörper gegen Ovomucoid oder Dextran besitzt, ohne daß eine Vorbehandlung („Sensibilisierung") vorausgegangen ist?

2. Nach zahlreichen Veröffentlichungen in der neueren Literatur können Eiweiße und auch Dextran bei manchen Tieren *„histaminähnliche"* Substanzen aus dem Gewebe *freisetzen*. Hierin könnte der Mechanismus der ödemerzeugenden Wirkung zu suchen sein. Wenn Ort und Mechanismus der Freisetzung dieser „histaminähnlichen" Substanzen durch Ovomucoid einerseits und Dextran andererseits auch differieren, wofür Anhaltspunkte bestehen, dann wäre eine Erklärung für die unterschiedliche pharmakologische Beeinflußbarkeit dieser beiden Entzündungsarten zunächst darin zu suchen.

Schlußwort. Kramer zu Domenjoz: Bei der Wahl der zur Ödemauslösung benutzten Dextrandosis habe ich mich nach Angaben von J. L. Morrison, A. P. Richardson u. W. L. Bloom gerichtet, die diese Dosis als optimal bezeichnen. Mit kleineren Dosen konnten sie nicht bei allen Tieren Ödeme auslösen. Die Unterschiede z. B. beim Procainamid waren so deutlich, daß sie mit einer verschiedenen Dosierung der ödemauslösenden Substanzen sicher nicht erklärt werden können, sondern qualitativer Art sein müssen.

Zu Herken: Ein weiterer Grund für die Unterschiede zu den Befunden von Domenjoz bei den Versuchen mit Dextran könnte in der verschiedenen Applikationsweise gegeben sein, da sich eine Allgemeinreaktion möglicherweise anders verhält als eine lokale.

Zu Alberty: 1. Da auch meines Wissens keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein spezifischer Antikörper gegen Dextran oder Ovomucoid bei der Ratte existieren, ist es besser, von „anaphylaktoiden" und nicht von „allergischen" Entzündungsreaktionen zu sprechen.

2. Ich danke für den Hinweis auf die Möglichkeit der Freisetzung „histaminähnlicher" Substanzen durch Dextran. In den mir bekannten Arbeiten von F. Hahn u. Wellmann; F. Hahn, H. Lange u. H. Giertz; ferner von Halpern u. Briot wurde die Freisetzung von *Histamin* durch Dextran im Serum und in der Haut der Ratte nachgewiesen. Da viele Antihistaminica, wie Neoantergan, Benadryl, Thephorin u. a., das Dextranödem nicht beeinflussen, während Megaphen, das kaum Antihistaminwirkung hat, sehr wirksam ist, ist es unwahrscheinlich, daß die Histaminfreisetzung die Ursache der Ödementstehung ist.

H. Friebel und Cl. Reichle (Bonn): Zur Prüfung von zentral hustenstillenden Arzneimitteln.

Von einer Reihe von Arzneimitteln wurde die absolute und relative hustenhemmende Wirkungsstärke bestimmt und mit der analgetischen Wirkung derselben Substanzen verglichen.

Zur Ermittlung der hustenhemmenden Wirkung wurde ein Testverfahren entwickelt, das in seinen Grundzügen von der Methode von Eichler und Smiatek ausgeht. Meerschweinchen wurden für 2 min in einen Behälter gesetzt, der von einem SO_2-Luftgemisch durchströmt wird. Tieren, die während des Aufenthaltes im Versuchsraum husteten, wurde anschließend die Prüfsubstanz s.c. injiziert. 30 min nach der Injektion wurde die Hustenbereitschaft erneut geprüft. Die Zahl der nach der Arzneimittelbehandlung nicht hustenden Tiere wurde der Berechnung der effektiven Dosen der Prüfsubstanzen nach Litchfield und Wilcoxon zugrunde gelegt.

Zur Ermittlung der analgetischen Wirkung dieser Substanzen am Meerschweinchen wurde der „twitch"-Test angewandt. Die Einzelheiten dieser Versuchsanordnung wurden möglichst weitgehend dem Verfahren zur Prüfung der hustenhemmenden Wirkung angeglichen (Auswahl der Versuchstiere, Intervall zwischen der s.c. Arzneimittelinjektion und der Analgesieprüfung, Berechnung der effektiven Dosen).

Von jeder der geprüften Substanzen genügte eine geringere Dosis zur Hemmung des Hustenreflexes als zur Hemmung des „twitch"-Reflexes. Der Quotient der ED 50 beider Wirkungsqualitäten war bei 14 geprüften Hustenmitteln bzw. Analgetica verschieden groß. Um den Husten bei 50% der Tiere zu verhüten, genügte z. B. von Codein $^1/_6$ der analgetischen ED 50, während zur Verhütung des Hustens bei der gleichen Anzahl von Tieren mit Dolantin $^2/_3$ der analgetischen ED 50 erforderlich war. Diese Differenz liegt außerhalb des Zufallsbereiches ($^{19}/_{20}$ Wahrscheinlichkeit). Die Ergebnisse beweisen, daß die hustenhemmende Wirkung der bekannteren Analgetica nicht mit ihrer analgetischen Wirkung parallel geht. Die Stoffe aus der Morphinreihe, die für das Meerschweinchen eine hervorragende hustenhemmende Wirkungsspezifität besitzen, tragen in 3-Stellung eine Oxymethylgruppe.

(Erscheint ausführlich im Arch. exper. Path. u. Pharmakol.)

Diskussion. Schaumann (Innsbruck): Die Bestimmung sowohl der analgetischen wie auch der hustenstillenden Wirkung ist mit so großen Unsicherheiten behaftet, daß ihre Ergebnisse nur mit großer Reserve verwertet werden dürfen. Die vom Vortragenden gefundenen antalgetischen Grenzdosen von Dolantin, Morphin und Dromoran stehen in Widerspruch zu der überwiegenden Zahl der Literaturangaben und der klinischen Erfahrung. Ein aus den vorgetragenen Versuchen errechneter Quotient zwischen analgetischer und hustenstillender Wirkung kann doch wohl kaum allgemeine Geltung besitzen.

Haas (Mannheim): Zwischen hustenstillender und atemschädigender Wirkung bestehen in der Reihe der zentralen Analgetica keine engen Beziehungen. Dicodid zeigt in Versuchen an der Katze die größte therapeutische Breite. Narkotin besitzt hustenhemmende Eigenschaften, ohne die Atmung überhaupt zu schädigen. Außerdem mangelt ihm jeder analgetische Effekt. Methodisch wird auf eine Registriermöglichkeit für Atemfrequenz und Atemvolumen mit einem einfachen, unter Laboratoriumsbedingungen herstellbaren Ordinatenschreiber aufmerksam gemacht.

Eichholtz (Heidelberg): Auf die praktische Bedeutung des Narkotins als hustenstillendes Mittel wird hingewiesen; Narkotin als Nicht-Opiat wirkt in gleicher Dosis wie Codein.

Krause (Hannover): Vergleichende Untersuchungen verschiedener starker Analgetica an verschiedenen Tierarten haben ergeben, daß das Meerschweinchen sich bei Anwendung des Wärmestrahls an der Schnauze etwas anders verhält als die weiße Maus. — Verglichen mit Morphin ist Dromoran am Meerschweinchen relativ schwächer und Dolantin relativ stärker wirksam als bei der weißen Maus.

Schlußwort. Friebel: Unsicherheiten in der Bestimmung der analgetischen und hustenhemmenden Wirkung wurden vermieden durch die Verwendung hinreichend großer Tierzahlen, durch mathematische Sicherung ($^{19}/_{20}$ Wahrscheinlichkeit) der Testergebnisse und durch zusätzliche Prüfung der Reproduzierbarkeit der ermittelten effektiven Dosen. Für die Zuverlässigkeit der von uns bei 2 Tierarten (Maus und Meerschweinchen) erprobten Meßverfahren für die analgetische Wirkung spricht: 1. die weitgehende Übereinstimmung des von Krause an Meerschweinchen ermittelten Verhältnisses der Dolantin- zur Morphinwirkung mit den eigenen Befunden; 2. die Übereinstimmung der von Kraushaar an der Maus ermittelten effektiven Dosen einer größeren Zahl von Stoffen mit (noch nicht veröffentlichten) eigenen Ergebnissen. Die Bemerkung von Krause bestätigt unsere eigene Erfahrung, daß Analgetica — absolut und relativ gesehen — bei verschiedenen Tierarten unterschiedliche Wirkungen ausüben. Infolgedessen haben wir es vermieden, unsere am Meerschweinchen gewonnenen Ergebnisse auf andere Tierarten oder den Menschen zu übertragen. Wir können daher Schaumann insofern zustimmen, als die von uns am Meerschweinchen für Dolantin, Morphium und Dromoran ermittelten ED 50 mit zahlreichen Literaturangaben nicht übereinstimmen, denn diesen liegen fast ausschließlich Versuche an Mäusen, Ratten, Kaninchen oder Hunden zugrunde. Auch die an diesen Tierarten gewonnenen Ergebnisse enthalten in ähnlicher Weise wie die am Meerschweinchen ermittelten Wirksamkeiten einen speziesbedingten Faktor, der eine sichere Voraussage für die Wirkung beim Menschen unmöglich macht. Insofern ist das Meerschweinchen zur Prüfung der analgetischen bzw. hustenhemmenden Wirkung nicht besser, aber auch nicht schlechter geeignet als andere Tierarten.

Ein Vergleich der hustenhemmenden mit der analgetischen Wirkung, der an Hand von Testergebnissen vorgenommen wird, die an *derselben* Tierart gewonnen

wurden, wird aber von der mangelhaften Übertragbarkeit der Ergebnisse von Tierart zu Tierart nicht berührt. Wenn also am Meerschweinchen nachgewiesen wurde, daß die hustenhemmende und die analgetische Wirkung der geprüften Arzneimittel nicht parallel gehen, so wird dieses Ergebnis von Schaumanns Bedenken nicht betroffen, es widerlegt unseres Erachtens eindeutig die *allgemeine Gültigkeit* der Annahme einer ungefähren Parallelität beider Wirkungsqualitäten.

W. Brendel und H. L'Allemand (Bad Nauheim-Gießen): Der Einfluß von Megaphen auf die Wärmeregulation.

Von H. Laborit, H. Weese u. a. ist dem Megaphen eine spezifische Wirkung auf die Temperaturregulation zugeschrieben worden. An der Auffassung dieser Autoren wurde von physiologischer Seite, besonders von R. Thauer, heftige Kritik geübt. Auch von klinischer Seite wurden Bedenken gegen eine Überschätzung der Megaphenwirkung vorgebracht. In allen diesen Diskussionen offenbarte sich das Fehlen systematischer Untersuchungen an größeren Säugetieren über die als entscheidender Faktor angesehene sogenannte histoplegische Wirkung und über den Einfluß dieser Substanz auf die Kälte-Gegenregulation. Deshalb wurden an Hunden Untersuchungen über diese Wirkungen des Megaphens durchgeführt.

Methode: Messung des respiratorischen Stoffwechsels und der Rectaltemperatur von 5 dressierten Hunden a) in thermoindifferenter Umgebungstemperatur (23—24° C), b) unter Kältebelastung (0° C, Kältekammer), im unbeeinflußten Zustand, nach Megaphen, Cocktail lytique und in Pernocton-Narkose. — Dosierung: Megaphen 2 und 10 mg/kg in 200 cm³ physiologischer NaCl-Lösung intravenös; Cocktail lytique: 2 mg/kg Megaphen, 2 mg/kg Atosil und 2 mg/kg Dolantin in 200 cm³ NaCl-Lösung i.v.; Pernocton: 38—52 mg/kg i.v.; bei den Kälteversuchen Injektion 5—10 min vor Kältebelastung.

Ergebnisse.

1. Versuche in thermoindifferenter Umgebung (23—24° C): Die an den 5 dressierten Hunden bestimmten Grundumsatzwerte (Minimalumsätze) stehen in guter Übereinstimmung mit den von F. G. Benedict ermittelten Standardwerten. Verglichen mit diesen liegen die unter Megaphen (2 und 10 mg/kg) und unter Cocktail lytique erzielbaren Minimalwerte des Sauerstoffverbrauches etwas höher, während die in Pernocton-Narkose zu beobachtenden Werte den Minimalwerten im unbeeinflußten Zustand nahezu gleich sind (W. Brendel, E. Koppermann u. R. Thauer). Wenn in der Literatur nach Megaphen Senkungen des Sauerstoffverbrauches gegenüber den Ausgangswerten angegeben wurden, so ist dies damit zu erklären, daß diese Ausgangswerte keine wahren Grundumsatzwerte nach den Kriterien von Benedict darstellen. Die unter Megaphen erzielbare

Reduktion des Sauerstoffverbrauches bedeutet demnach nur die Senkung eines bereits erhöhten Umsatzes, die dem Grad der durch Megaphen hervorgerufenen „Beruhigung" zu entsprechen scheint. Eine „histoplegische" Wirkung ist demnach nicht nachweisbar.

Selbst wenn es aber eine solche „histoplegische" Wirkung gäbe, wäre sie für die Frage der Megaphenwirkung auf die Thermoregulation bedeutungslos, da ein homoiothermer Organismus auch bei gesenktem Minimalumsatz eine normale Temperaturregulation besitzen kann. Es wurde deshalb in einer zweiten Versuchsreihe geprüft, ob die Kälte-Gegenregulation, die bei einer Umgebungstemperatur von 0° C im Normalzustand eintritt, durch Megaphen beeinflußt werden kann.

2. Versuche unter Kältebelastung (0° C): Unter Kältebelastung von 0° C steigt bei den pharmakologisch nicht beeinflußten Hunden die Wärmeproduktion, gemessen am Sauerstoffverbrauch, um etwa 100% an, so daß die Rectaltemperatur trotz der vermehrten Wärmeabgabe konstant gehalten werden kann. Bei den mit Megaphen und Cocktail lytique behandelten Tieren tritt diese Gegenregulation mit nahezu gleicher Intensität wie bei den unbehandelten Tieren auf, jedoch fällt die Rectaltemperatur im Laufe der ersten 120 min um 1—2° C ab, um danach nur allmählich wieder anzusteigen. In Pernocton-Narkose findet eine vollständige Unterdrückung der Gegenregulation statt: Der Sauerstoffverbrauch fällt gegenüber dem Ausgangswert um etwa 25% ab, die Rectaltemperatur sinkt von 39° auf im Mittel 34° C. — Vergleicht man die Maximalwerte des Sauerstoffverbrauches unter Megaphen mit denen im unbeeinflußten Zustand, so findet man, daß bei zwei von den fünf Hunden die Maximalwerte überhaupt nicht, in 3 Fällen nur geringfügig reduziert sind. Da in allen Megaphenversuchen die Rectaltemperatur um 1—2° C absank, muß auch in den Fällen, in denen die Maximalwerte des Sauerstoffverbrauches gleich denen der unbehandelten Tiere waren, auf eine geringe Dämpfung der Gegenregulation geschlossen werden.

Für die *Deutung* der Megaphenwirkung auf die Gegenregulation bei Abkühlung ist die Tatsache wichtig, daß nach Megaphen eine charakteristische Umstellung der Atmung eintritt. Im Gegensatz zu den unbeeinflußten Tieren, die unter Kältebelastung eine Steigerung des Atemvolumens entsprechend dem Sauerstoffverbrauch aufweisen, bleibt unter Megaphen das Atemvolumen im wesentlichen unverändert, während die Atemtiefe unter Abnahme der Atemfrequenz zunimmt. Diese besondere Wirkung des Megaphens auf die Atmung wird zur Erklärung der in der Literatur niedergelegten Befunde an Kleintieren (Mäusen, Ratten, Meerschweinchen) herangezogen, wonach diese unter Kältebelastung eine bedeutend stärkere Einschränkung der Gegenregulation aufweisen sollen, als die eigenen Versuche an Hunden ergeben haben. Bei Kleintieren steht nämlich die Atmung im Dienste der Wärmeregulation. Der auf die Atem-

tätigkeit entfallende Anteil des Sauerstoffverbrauches beträgt z. B. bei Mäusen schon unter Ruhebedingungen bis zu 40% (Hund und Mensch 1—12%). Außerdem steigern Kleintiere ihre Wärmeproduktion in kalter Umgebung durch Erhöhung der Atemfrequenz (F. Groebbels). Die reduzierende Wirkung des Megaphens auf die Atmung blockiert daher beim Kleintier den wichtigsten wärmeregulatorischen Mechanismus, während die gleiche Wirkung an größeren Warmblütern und Menschen wärmeregulatorisch nur von geringer Bedeutung ist.

Literatur.

Benedict, F. G.: Vital Energetics, Carnegie Institution Publication Nr. 503. Washington 1938. — Brendel, W., E. Koppermann u. R. Thauer: Pflügers Arch. **259**, 357 (1954). — Groebbels, F.: Pflügers Arch. **208**, 661 (1925). — Laborit, H.: XX. Tagung Dt. Pharmakol. Ges. 1953; Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 41 (1954). — Thauer, R.: XX. Tagung Dt. Pharmakol. Ges. 1953; Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 80 (1954). — Weese, H.: XX. Tagung Dt. Pharmakol. Ges. 1953; Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 79 (1954).

Diskussion. Wirth (Wuppertal-Elberfeld): Die Kombination Megaphen-Atosil-Dolantin (bzw. Citarin) setzt am Meerschweinchen bei Kältebelastung den Sauerstoffverbrauch herab. Dieser Effekt wird zum Teil auf die periphere Wirkungskomponente des Megaphen bezogen (bereits vorgetragen Wirth, Chirurgen-Tagung München 1954).

Eichholtz (Heidelberg): Verweise auf *Dolantin* als das in der Hibernation verwendete Mittel zur Ausschaltung von Wärmeregulation; beim Menschen verhütet dieses nämlich den Schüttelfrost.

Thauer (Bad Nauheim): Zu Wirth: Auf der letzten Pharmakologentagung in Bonn (1953) ist ganz generell die Ansicht vertreten worden, daß Megaphen histoplegisch wirkt und eine dem Winterschlaf ähnliche Störung der Thermoregulation hervorruft. Die Befunde, die Brendel und L'Allemand in meinem Institut erhoben haben, konnten diese Annahme — wenigstens für den Hund — nicht bestätigen. Noch bestehende Differenzen hinsichtlich der experimentellen Ergebnisse dürften auf das unterschiedliche Verhalten der Kleintiere zurückzuführen sein (s. Schlußwort Brendel!).

Schmid (Tübingen): Megaphen stört die Temperaturregulation. Am Meerschweinchen wurde im Dosierungsbereich von 0,5—5 mg/kg nach einer Temperatursenkung eine Steigerung beobachtet.

Brock (Brackwede): Megaphen (25 mg/kg) führt in eigenen Versuchen an Ratten zu einer Senkung des O_2-Verbrauchs um etwa 30% über 4 Std. Dieser Befund ist wohl im Sinne von Brendel und Thauer zu verwerten, da es an Kleintieren kaum je möglich sein wird, an nichtnarkotisierten Tieren den Ruhe-Minimalumsatz einzustellen.

Feller (Leipzig): Mit Megaphen kam es in Dosen von 10 mg/kg an der Ratte, erst nachdem das Tier eine Rectal-Temperatur von 31° C unterschritten hatte, zu einer Stoffwechselsenkung unter den Minimalumsatz.

Schlußwort. Brendel zu Eichholtz: Cocktail lytique (mit Dolantin) hatte keinen stärkeren Effekt als Megaphen allein.

Alle Angaben über Senkungen des Sauerstoffverbrauches sind nur sinnvoll, wenn der Ausgangswert ausreichend definiert ist. Am besten geschieht dies, wie wir gezeigt haben, durch systematische Untersuchungen über den Minimalumsatz des Versuchstieres im thermoindifferenten Bereich und durch den Vergleich dieses Minimalumsatzes mit den Standardwerten nach Benedict. Wie Herr Brock ausführt, ist es allerdings außerordentlich schwer, an nichtnarkotisierten Kleintieren den Minimalumsatz zu bestimmen. Aus diesem Grunde liegen auch die meisten in der Literatur bekannten Ausgangswerte über den Benedict-Werten. Man muß daher in der Beurteilung der an Kleintieren gewonnenen Ergebnisse entsprechend vorsichtig sein. Außerdem müssen die Atemwirkungen berücksichtigt werden, die in der von uns geschilderten Weise ebenfalls im Gesamtsauerstoffverbrauch zum Ausdruck kommen können.

K. Feller (Leipzig): Gasstoffwechselversuche mit einigen Phenothiazinkörpern.

In der Literatur wird von verschiedenen Phenothiazinkörpern eine Hemmung des Zellstoffwechsels beschrieben. Da jedoch diese Befunde nicht unwidersprochen blieben, untersuchten wir aus dieser Reihe den Einfluß von Phenergan, Diparcol und vor allen Dingen das Megaphen auf den Gasstoffwechsel von 100 Ratten. Mit einer modifizierten Hecht-Junkmannschen Apparatur wurde der O_2-Verbrauch und die CO_2-Bildung bestimmt und gleichzeitig die Rectaltemperatur gemessen. Durch strenge Auswahl und lange Gewöhnungszeit wurde der Minimalumsatz der Tiere ermittelt. Die Ratten erhielten eine Standardkost nach Oberdisse und wurden 24 Std vor Versuchsbeginn nüchtern gehalten. Die drei Stoffe, in Dosen von 1 mg/kg subcutan verabreicht, ließen keine Körpertemperatursenkung erkennen, aber beschleunigten schon den Gasstoffwechsel um 20%. In Gaben von 10 mg/kg subcutan injiziert, blieb die Körpertemperatur bei Diparcol unverändert, während sie bei Phenergan um 1 bis 2° sank. Es trat dabei eine Steigerung des Sauerstoffverbrauches von 30 bis 40% auf. Besonders stark war in dieser Dosierung bei Megaphen die Temperaturerniedrigung. Der Gaswechsel stieg bis zu 50% an, um dann bei weiterhin abnehmender Temperatur zu fallen. Erst bei 32 bis 31° wurden die Minimalwerte erreicht. Sank die Temperatur noch tiefer, so wurde auch der O_2-Verbrauch unter den Minimalumsatz erniedrigt.

Von Dinitrophenol ist bekannt, daß es eine Steigerung des Zellstoffwechsels bewirkt. Verabreicht man diesen Stoff bis zu 20 mg/kg i.p., so kann keine Abschwächung oder Verstärkung der Wirkung durch Megaphen (10 mg/kg s.c.) festgestellt werden. Auch wenn der Sauerstoffverbrauch bei einer Temperatur von 32 bis 31° den Minimalumsatz erreicht hat, steigert Dinitrophenol den Gaswechsel und läßt die Temperatur um 4° ansteigen.

Weiterhin wurde die Beeinflussung der Megaphenwirkung auf die Stoffwechselsteigerung nach vorheriger Thyroxingabe von 2 mg/kg an

drei aufeinanderfolgenden Tagen untersucht. Nach Verabreichung von 10 mg/kg Megaphen kommt es zunächst in der ersten Stunde nach der Injektion zu einer mäßigen zusätzlichen Stoffwechselsteigerung bei einer bereits um 3° abgefallenen Körpertemperatur. Die Rectaltemperatur sinkt weiter ab und mit ihr der Sauerstoffverbrauch, um bei etwa 31,5° den Minimalausgangswert zu erreichen. Weiteres Absinken der Temperatur ist ebenfalls mit einer Senkung des O_2-Verbrauches verbunden. Der respiratorische Quotient verändert sich in allen drei Versuchsreihen nicht.

Die gefundenen Werte wurden in ein $\%O_2$-Verbrauch-Temperatur-Diagramm eingetragen. Es stellte sich eine verhältnismäßig strenge Abhängigkeit O_2-Verbrauch — Temperatur dar. Die mathematische Überprüfung ergab einen Korrelationskoeffizient von

0 + 0,52 bei Megaphen
0 + 0,59 bei Dinitrophenol + Megaphen
0 + 0,54 bei Thyroxin + Megaphen.

Die graphische Darstellung ergab übereinstimmend für alle drei Versuchsreihen eine Rückkehr zum ermittelten Minimalumsatz bei etwa 31,5°. Auf Grund dieser Befunde an der Ratte läßt sich aussagen, daß zur Beurteilung des Gasstoffwechsels, insbesondere bei Megaphengaben, eine gleichzeitige Messung der Temperatur erforderlich ist. Die Befunde sprechen weiterhin nicht für eine spezifisch-histoplegische Wirkung des Megaphens. Ergänzend hierzu kann noch erwähnt werden, daß an Kaulquappen keine Metamorphosehemmung und kein Antagonismus gegenüber Thyroxin besteht.

Diskussion. Breuninger (Tübingen): Am Meerschweinchen tritt bei Zimmertemperatur fast regelmäßig bei einmaliger subcutaner Injektion von 0,1—5 mg Megaphen nach einem Abfall der Rectaltemperatur ein reaktiver, überschießender Anstieg der Körpertemperatur über das Ausgangsniveau auf. Diese Tatsache einer zentralen Gegenregulation mag zur Deutung der unterschiedlichen Ergebnisse von Stoffwechseluntersuchungen bei Kleintieren unter Megaphenwirkung beitragen.

Rummel (Düsseldorf): Es wird nach der Höhe der Umgebungstemperatur und ihrer Konstanz gefragt.

Hauschild (Leipzig): Für eine zentrale Wirkung von Megaphen, Diparcol usw. sprechen Befunde, die bei gleichzeitiger Gabe von Megaphen und Phenuron sowie anderer Antikonvulsiva erhalten wurden. Die antikonvulsive Wirkung von Megaphen ist bekannt. Es wurden Mäusen gleichzeitig Megaphen- und Phenurondosen gegeben, welche für sich allein die Elektrokrampfschwelle deutlich erhöhten und eine Erhöhung des Krampfstromes um etwa 50% der Norm zum Auslösen des Elektrokrampfanfalles erforderten. Unter bestimmten Versuchsbedingungen wirkten beide Stoffe nicht additiv, sondern antagonistisch. Zum Teil konnte die Antikonvulsivwirkung von Phenuron durch im Elektroschock ebensostark wirkende Megaphendosen völlig unterdrückt werden, so daß der Elektrokrampf bei Stromdosen auftrat, die den normalen Krampfschwellendosen entsprachen.

Schlußwort. Feller: Die Umgebungstemperatur betrug 26 ± 0,2° C. Nach Dosen bis zu 1 mg/kg Megaphen s.c. fanden wir die Körpertemperatur der im Thermostaten befindlichen Tiere im Bereich der physiologischen Schwankung.

W. Kalkoff (Halle a. d. S.): Megaphenwirkung und pressoreceptorische Reflexe in ihrem Erfolg am Blutdruck und den Aktionspotentialen.

Über die Blutdruckwirkung des Megaphens liegen bereits einige tierexperimentelle und klinische Beobachtungen — insbesondere von seiten französischer Autoren — vor. Es schien gerade deshalb von Interesse zu sein, durch eine quantitative Analyse der pressoreceptorischen Kreislaufreflexe die Wirkung des Megaphens vornehmlich im Hinblick auf die Beeinflussung der Blutdruck*regulation* zu untersuchen.

Die Experimente wurden an 9 mit Morphium/Urethan narkotisierten Hunden vorgenommen. In allen Versuchen wurden, um Gegenregulationen von seiten der Aortennerven zu vermeiden, beide Nn. vagi durchschnitten, weiterhin wurde einseitig ein Sinuspräparat angelegt, so daß beim Druck 0 im Präparat immer nur ein pressoreceptorischer Nerv, nämlich der nicht präparierte Sinusnerv, regulatorisch wirksam war.

Der Blutdruck nach Abklemmung der durchbluteten Carotis communis, also nach funktioneller Ausschaltung des letzten noch regulierenden pressoreceptorischen Nerven (*Maximalblutdruck*) sinkt bereits 3 min nach Beginn einer intravenösen Megapheninfusion von 0,03 mg/kg/min außerordentlich tief ab (von 260 auf 160 mm Hg) und steigt auch nach Stunden nicht wieder an. Da der Maximalblutdruck einen gewissen Anhalt für die jeweilige Erregungsgröße des enthemmten Vasomotorenzentrums gibt, weist dieser starke Abfall des Maximalblutdruckes offenbar auf eine Herabsetzung der zentralen Vasomotorenerregung, also einen zentralen Angriff des Megaphens hin. Eine starke Stütze für diese Ansicht ist, wie noch ausführlich beschrieben wird, die gleichzeitige dauernde Erhöhung der Reizschwelle der Pressoreceptoren. Die vom letzten Pressorezeptor eingestellte Blutdruckhöhe, der *regulierte Blutdruck*, entspricht dem üblicherweise in Experiment und Klinik gemessenen Mittelwert der Blutdruckamplitude. Es muß besonders betont werden, daß er während der intravenösen Megapheninfusion nur wenig absinkt und trotz Fortsetzung der Infusionen unverändert in einem Bereich von etwa 115—130 mm Hg bleibt. In anderen Versuchen änderte sich nach unseren Beobachtungen dieser regulierte Blutdruck sogar überhaupt nicht während i.v. Megapheninfusionen, obwohl der Blutdruckanstieg nach Abklemmung der Carotis communis ebenfalls extrem verkleinert war. Die Blutdruckhöhe, welche bei maximaler Reizung der Pressorezeptoren erreicht wurde, der sogenannte *Minimalblutdruck*, änderte sich während der Megapheninfusionen nicht wesentlich. Dagegen steigt der Minimalblutdruck aber plötzlich an, wenn das Megaphen Gelegenheit hat, auf den bisher nicht durchbluteten Carotis-Sinus lokal einzuwirken. Es wurde dies in der Weise durchgeführt, daß man dem mit intravenösen Megapheninfusionen vorbehandelten Tier Blut entnahm und in das Sinuspräparat einfüllte.

Dadurch wurde erreicht, daß das Megaphen in der im Blut vorhandenen Konzentration auf die Receptionszone lokal einwirkt. Der Anstieg des Minimalblutdrucks spricht für einen lokal lähmenden Angriff des Megaphens an der pressoreceptorischen Reflexzone, das bereits in der beim Versuchstier vorliegenden Blutkonzentration zu einer teilweisen Lähmung mit Einschränkung des Reizerfolges am Blutdruck führt.

Obwohl an der reflektorischen Blutdruckwirkung zweifellos eine lokale Wirkung erwiesen ist, kann die Zahl der Aktionspotentiale in diesem Stadium der beginnenden Lähmung gegenüber dem Ausgang oft noch unverändert sein, und es besteht eine Diskrepanz zwischen der reflektorischen Blutdruckwirkung einerseits und der Potentialzahl des *undurchschnittenen* Sinusnerven andererseits. Es wurde bereits anderen Orts darüber berichtet, daß auch bei anderen Zustandsänderungen der Reflexzone die Potentialzahl des Sinusnerven allein kein Kriterium für den zentral vermittelten Reflexerfolg am Blutdruck ist. Wenn allerdings unter sehr hohen Megaphenkonzentrationen eine komplette Lähmung erfolgt ist, nimmt auch die Potentialzahl bei endosinualer Druckerhöhung nicht mehr zu.

Eine noch genauere Analyse des Reflexbogens wurde schließlich mit Hilfe von Blutdruckcharakteristiken vorgenommen, indem verschieden hohe endosinuale Druckreize zur reflektorisch eingestellten Blutdruckhöhe in Beziehung gesetzt wurden und so die gesamte Reflexbreite abgetastet wurde. Das Absinken des enthemmten Blutdruckes (Maximalblutdruckes) während der intravenösen Megapheninfusionen konnte bestätigt werden. Neu dagegen ist die dauernde Erhöhung der Reizschwelle. Der Blutdruck sinkt erst bei einem endosinualen Druck von 80 mm Hg, manchmal sogar von 120 mm Hg gegenüber 60 mm Hg vor Megapheninfusion ab. Bei genauer Betrachtung kann man dem Diagramm entnehmen, daß sich gerade infolge dieser Schwellenverschiebung die Regulationspunkte, die dem regulierten Blutdruck entsprechen und auf die sich der Blutdruck als gleichzeitig regelnde und regulierte Größe einstellen muß, während der Megapheninfusionen und auch danach nicht wesentlich verändern können. Die während der intravenösen Megapheninfusionen aufgenommenen Blutdruckcharakteristiken sind wegen der Schwellenverschiebung in ihrem oberen Anteil nach rechts versetzt. Der regulierte Blutdruck kann also nicht absinken, obwohl der Maximalblutdruck oft so außerordentlich tief in unmittelbarer Nähe des regulierten Blutdruckes liegt.

Wenn durch die Versuchsresultate ein zentraler und ein sicherer peripherer Angriffspunkt des Megaphens nachgewiesen werden konnte, ergeben sich für die Blutdruck*regulation* besonders günstige Verhältnisse, da zwar einerseits zentrale, konstriktorische Impulse vermindert werden, andererseits aber gleichzeitig der zentral hemmende Einfluß der Presso-

rezeptoren infolge der Reizschwellenerhöhung herabgesetzt wird. Wegen dieses doppelten Angriffes an zwei Stellen des Reflexbogens, von denen aus die regulierte Blutdruckhöhe gegensinnig beeinflußt wird, steht das Megaphen in einem gewissen Gegensatz zu den Ganglienblockern, wie TAB und Pendiomid, die einseitig an der efferenten vasomotorischen Bahn angreifen und immer sofort zu Blutdrucksenkungen führen müssen. Beim Megaphen dagegen bleibt über einen relativ breiten Dosierungsbereich hin ein günstiges Gleichgewicht im pressoreceptorischen Reflexbogen erhalten, das erst dann gestört werden kann, wenn die Vasomotorenerregung unter sehr hohen Dosen extrem gesenkt wird.

Diskussion. Fleckenstein (Heidelberg): Entlastung des Carotissinus führt zu einer Ausschüttung von Adrenalin bzw. Noradrenalin aus dem Nebennierenmark (C. Heymans, P. Holtz). Ein Stoff, der stärkere adrenolytische bzw. noradrenolytische Wirkungen aufweist, wie z. B. Regitin, wird daher den Effekt der ausgeschütteten pressorischen Amine auf die periphere Strombahn hemmen können, d. h. speziell den Hochdruck bei Carotissinus-Entlastung, ähnlich wie bei Phäochromocytomen, kräftig senken. Auch Megaphen besitzt starke, peripher adrenolytische Eigenschaften, die mit Regitin bzw. Yohimbin vergleichbar sind (vgl. auch v. Bubnoff u. Taugner, Vortrag Nr. 41). Es ist daher wahrscheinlich, daß auch bei der Senkung des Entzügelungs-Hochdrucks durch Megaphen periphere Angriffspunkte zu berücksichtigen sind. Es wäre wichtig, zu untersuchen: a) in welchen Dosen Megaphen die Wirkungen von injiziertem Adrenalin bzw. Noradrenalin auf die Nickhautmuskulatur hemmt, und b) ob diese Dosen die gleichen sind, die auch den Hochdruck bei Carotissinus-Entlastung senken.

Krause (Hannover): Megaphen wirkt sowohl zentral sympathicusdämpfend wie auch peripher adrenolytisch. Die direkte Wirkung auf den Carotissinus beruht auf dem lokalanästhetischen bzw. endoanästhetischen Effekt. — Die zentrale sympathicusdämpfende Wirkung konnten wir eindeutig am gekreuzten Kreislauf des Hundes feststellen; die stärkste Wirkung wurde am zerstörten Carotissinus, also bei enthemmtem Vasomotorenzentrum, beobachtet. Bei erhaltenem Carotissinus zeigt sich am gekreuzten Kreislauf nach Injektion von Megaphen primär eine kurze pressorische Phase, die von der lokalanästhetischen Wirkung des Präparates abhängt. – Die Wirkung von Atosil, Megaphen und gewöhnlichen Lokalanästhetica auf den Carotissinus wurde auch schon von Hazard mit relativ einfacher Methodik demonstriert.

Zipf (Bonn): Die von Krause angeführte zentrale Dämpfung durch Megaphen ließ sich auch in unseren Versuchen zeigen. Der depressorische Effekt der afferenten elektrischen Depressor- oder Vagusreizung (bei dieser auch der gelegentliche pressorische) wurde nach Megaphen deutlich herabgesetzt (Verlängerung der Latenzzeit, Verringerung der Abstiegs- bzw. Anstiegsgeschwindigkeit, der Größe der Blutdruckänderung, der Rückgangszeit zur Norm). Cardiazol wirkte dieser Megaphenwirkung entgegen. An Lungendehnungsreceptoren des Meerschweinchens wurde primär eine veratrinartige Zunahme der Impulsaussendung, daran anschließend eine geringe Endoanästhesie (Abflachung der Impulse) beobachtet.

Schlußwort. Kalkoff: Eine wesentliche adrenolytische Wirkung bereits nach i.v. Infusion von 0,03—0,06 mg/kg Megaphen muß an Hand der Formveränderungen der Blutdruckcharakteristiken nach unseren Versuchen abgelehnt werden (Schwellenverschiebung, Verhalten des Minimalblutdrucks).

Die Untersuchungen am isoliert durchströmten Kopf bestätigen ebenfalls den zentralen Angriff des Megaphens. Im übrigen wurde angestrebt, einen quantitativen Einblick in die Kreislauf*regulation* zu gewinnen, da ja bekanntlich die Kenntnis von Angriffspunkten eines Pharmakons allein zum Verständnis seiner Wirkung in einem Regulationssystem nicht ausreicht.

F. Leuschner (Erlangen): Über die antagonistische Wirkung von Phenylisopropylamin-Abkömmlingen auf die Motilität der Maus.

Obgleich das pharmakologische Erscheinungsbild von Benzedrin- und Morphinan-Abkömmlingen — von Substanz, Dosis, Tierart und Reaktionslage abhängig — wenig Einheitliches bietet, legt die in beiden gemeinsame Phenylisopropylamingruppe die Annahme nahe, Zusammenhänge zu erwarten. Bei der Maus steigern Benzedrin und Dromoran die Spontanmotilität. Diese Übereinstimmung schien geeignet, konstitutionell zwischen Benzedrin und Dromoran liegende chemische Glieder mit der Phenylisopropylamingruppe auf ihre motilitätssteigernde Wirkung zu prüfen, um aus Wirkungsrichtung und -ausmaß Rückschlüsse auf einen gemeinsamen funktionellen Grundkörper ziehen zu können. Fernerhin diente die Untersuchung einiger ungesättigter Verbindungen — in Ähnlichkeit zum Allylantagonismus der Morphinangruppe — demselben Zwecke, nämlich funktionelle Verwandtschaft zu finden.

In Vorversuchen an Molekülmodellen aus Atomkalotten nach Stuart u. Briegleb konnten beim Vergleich der Wirksamkeitsdaten mit dem räumlichen Bau zentral erregender Stoffe dieser beiden Gruppen einige Auffälligkeiten bemerkt werden, die für die späteren Befunde im begrenzten Rahmen Voraussagen zuließen, nämlich 1. die Exposition des Benzolkernes im Molekül und 2. die Behinderung bis zur völligen Aufhebung der freien Drehbarkeit zwischen Benzolkern und dem β-ständigen C-Atom.

Zur Prüfung der Substanzen wurde die quantitative Bestimmung der Spontanmotilität der Maus herangezogen. Die benutzten Apparate verwendeten das Prinzip der Briefwaage als Bewegungsüberträger. Die Registrierung erfolgte über einen lichtgesteuerten elektronischen Schalter und einen dekadischen Impulsraffer. Die mit diesem Verfahren gefundenen Untersuchungsergebnisse wurden mit einem Pervitinstandard verglichen.

Ergänzt man den Benzylrest des Benzedrins durch einen Piperidinring, wobei Phenylisopropylamin in seiner Anordnung nahezu erhalten bleibt, wird 2-Benzylpiperidin gewonnen, das die Motilität der Maus steigert. Wenngleich das Ausmaß der Wirkung geringer ist, so entspricht doch der Charakter der Erregung dem des Benzedrins. Das ungesättigte Analogon, das 2-Benzylpyridin, erregt ebenfalls die Maus, fällt jedoch durch seine außerordentlich hohe Wirkungsdosis aus der Reihe. Wird der

Piperidinring durch einen Tetrahydroisochinolinring ersetzt, so entsteht das 1-Benzyl-tetrahydroisochinolin bzw. sein Derivat, das Laudanosin, wodurch keine Veränderung der Reaktionsrichtung eintritt. Alle Tiere waren deutlich erregt, beim Laudanosin allerdings nur in geringem Ausmaß. Einen wesentlichen Eingriff in den Wirkungscharakter bedeutet dagegen die Einführung des ungesättigten Isochinolinringsystems und in noch ausgeprägterem Maße dessen Substitution durch eine Allylgruppe am N-Atom. Die erregende Komponente der hydrierten Körper schlägt in eine Hemmung der Spontanmotilität der Maus und antagonistische Wirkung gegen Pervitin um. Dieser überraschende Wirkungsumschlag kann als Ähnlichkeit mit dem Allylantagonismus der Morphinangruppe gedeutet werden. Bei etwas näherer Betrachtung zeichnen sich allerdings — abgesehen von den strukturellen Differenzen der Allylbindung — schon am Reaktionsablauf bei der Maus wesentliche Unterschiede nach Art und Dosis ab, die von einer unmittelbaren Übereinstimmung der beiden Antagonismen nicht zu sprechen erlauben. Diese Beobachtung des Wirkungsumschlages harmoniert mit der Regel, die v. Braun für gewisse ungesättigte Substitution an Heteroatomen, d. h. an funktionellen Gruppen, aufstellte, und gestattet deshalb, einen Hinweis auf die Wirkungsgruppierung zu entnehmen.

Bemerkenswert scheint die Fortführung einer gemeinsamen Eigenschaft über eine Kette ähnlicher Verbindungen zwischen Benzedrin und Dromoran. Bewährt sich diese Verknüpfung pharmakologischer Eigenschaften mit Phenylisopropylamin-Abkömmlingen, so kann der Gedanke eines funktionellen Grundkörpers an Wahrscheinlichkeit gewinnen.

H.-H. Frey und K. Soehring (Hamburg-Eppendorf): Procainnachweis im Rückenmark während der Periduralanaesthesie bei Hunden.

In früheren Untersuchungen (Frey 1953) konnte gezeigt werden, daß nach Periduralanaesthesien im lumbal entnommenen Liquor des Hundes bereits kurz nach der Anaesthesierung relativ hohe Procainkonzentrationen auftreten. In Übereinstimmung mit Beecher und Mitarbeitern (1951) und Siekmann (1952) glauben wir diesen Konzentrationen, die die von Helrich und Mitarbeitern (1950) bestimmte anaesthetische Schwellenkonzentration für Procain im Liquor erheblich übersteigen, einen anaesthetischen Effekt zuschreiben zu müssen.

Es blieb zu klären, ob es sich bei der intraduralen Wirkungskomponente lediglich um einen oberflächenanaesthetischen Effekt vom Liquor aus handelte oder ob nennenswerte Procainmengen als Base ins Rückenmark und die intraduralen Anteile seiner Nervenwurzeln übertreten würden. Nach den grundlegenden Untersuchungen von Labes (1929) über die

Verteilungsverhältnisse von Strychnin im Rückenmark, sowie den speziellen Untersuchungen von Eisenbrand u. Picher (1938) und Terp (1953) für Procain war der zweite Wirkungsmodus zu erwarten.

Es wurden bei 39 Hunden Procainbestimmungen im Rückenmark und den intraduralen Anteilen der Nervenwurzeln mit der von Schulz modifizierten Methode von Soehring u. Pape (1949) durchgeführt. Die Periduralanaesthesie wurde vom Lumbosakralspalt oder bei L 6/7 vorgenommen. Es wurde eine 2%ige wäßrige Procainlösung in der an anderer Stelle (Frey, Diss. Hannover 1951) angegebenen Laparotomiedosis injiziert. 10 min bis 1 Std nach der Injektion wurden die Hunde getötet und sofort das Rückenmark von L 3 bis zum Conus medullaris entnommen. Die Dura wurde abpräpariert und dabei die Nervenwurzeln so weit wie möglich aus den Durascheiden gezogen, anschließend wurde das Rückenmark 1 min in Ringerlösung gewaschen, um außen haftendes Hydrochlorid zu entfernen. Die Bestimmungen wurden für Lendenmark, Conus medullaris und Nervenwurzeln getrennt vorgenommen.

In den intraduralen Anteilen der Nervenwurzeln konnten bereits nach 10 min Werte um 1 mg/g Procain nachgewiesen werden, die Konzentration in Lendenmark und Conus medullaris betrug $^1/_3$—$^1/_2$ davon. Der Konzentrationsabfall erfolgt im Gewebe erheblich langsamer als im Liquor und entspricht der klinischen Dauer der Anaesthesie besser. So zeigten Hunde, bei denen die Anaesthesie nach 1 Std bereits abgeklungen war, niedrigere Werte als solche, bei denen noch Anaesthesie bestand. Eine getrennte Untersuchung von Rinde und Mark des Lendenmarkes ergab im Mark nur Spuren von Procain, was mit Untersuchungen von Howarth (1949) bei der Lumbalanaesthesie übereinstimmt.

Die vorgetragenen Untersuchungen stützen unsere schon an anderer Stelle vertretene Auffassung, daß der Angriff der Periduralanaesthesie zu einem wesentlichen Teil subdural — und dort wohl in erster Linie an den Nervenwurzeln — zu suchen ist.

Diskussion. Greeff (Frankfurt a. M.): Wenn man annimmt, daß Novocain bei der Periduralanaesthesie intradural, also auf dem Wege über den Liquor zur Wirkung gelangt, so ist es meines Erachtens schwer verständlich, weshalb die Periduralanaesthesie sich so sehr viel schärfer begrenzen läßt als die Lumbalanaesthesie.

Schlußwort. Frey: Die streng segmentale Ausdehnung der Periduralanaesthesie im Gegensatz zur Lumbalanaesthesie steht nur scheinbar in Widerspruch zu unseren Versuchsergebnissen, wenn man bedenkt, daß bei der Periduralanaesthesie das Anaesthetikum langsam durch die Dura in den Liquor tritt und die dort erreichten Konzentrationen in keinem Verhältnis zu denen bei der Lumbalanaesthesie, wo das hochkonzentrierte Anaesthetikum direkt und unter Druck in den Liquor injiziert wird, stehen.

E. Kreppel und H. F. Zipf (Bonn): Weitere Untersuchungen zum lokalanaesthetischen Wirkungscharakter des Benzyl-Penicillin-Diäthylaminoäthanol-Esters.

Der Benzyl-Penicillin-Ester des Diäthylaminoäthanols (PDE) wird in Klinik und Praxis als lungenaffines Depotpenicillin angewandt. In seiner ungespaltenen Form aber ist PDE antibiotisch inaktiv. Erst im Organismus entsteht durch Hydrolyse das wirksame Spaltprodukt Penicillin G, daneben Diäthylaminoäthanol.

Für den Gesamtester wurden vor allem von skandinavischer Seite bereits lokalanaesthetische, chinidinartige, Blutdruck senkende und teilweise ganglioplege Wirkungen festgestellt. PDE ist also primär als Organpharmakon zu betrachten, das erst sekundär chemotherapeutische Eigenschaften entwickelt. Diese Tatsache ist dem Therapeuten weitgehend unbekannt.

In eigenen Versuchen haben wir die lokalanaesthetische Wirkung bestätigt. Darüber hinaus untersuchten wir PDE auf endoanaesthetische Qualitäten. Unter *Endoanaesthesie* ist nach Zipf die Dämpfung bzw. Ausschaltung normal tätiger oder sensibilisierter innerer sensibler Organreceptoren auf dem Blutwege zu verstehen. Die Endoanaesthesie wird in der Regel durch i.v. Verabreichung von Lokalanaesthetica herbeigeführt.

An *Lungendehnungsreceptoren* von Kaninchen, Katzen und Meerschweinchen prüften wir die Wirkung von i.v. verabreichtem PDE:

1. Auf die Normalimpulse
2. Auf die durch Veratrinsulfat hervorgerufenen kontinuierlichen Receptorenentladungen.

Durch 10 mg/kg PDE i.v. wurden für die Dauer von etwa 5 min die Impulse der durch künstliche Atmung konstant gereizten Lungendehnungsreceptoren deutlich erniedrigt. Der endoanaesthetische Effekt ist hier nur ein partieller, doch kann er durch höhere Dosen noch beträchtlich verstärkt werden. Die *endoanaesthetische Grenzdosis* lag bei 2 mg/kg. Sie entspricht also der des Procains.

Viel deutlicher kam die Endoanaesthesie zum Ausdruck, wenn wir die Lungenausdehnungsreceptoren durch *Veratrinsulfat sensibilisierten.*

Die endoanaesthetische Wirkung von PDE ließ sich auch an der Aufhebung des durch Veratrin eingestellten Bezold-Jarisch-Reflexes der Katze zeigen:

100 γ/kg Veratrinsulfat intravenös führt eine sehr deutliche Blutdrucksenkung und Bradykardie herbei. Durch 5 mg/kg PDE i.v. werden beide Wirkungen vorübergehend völlig beseitigt.

Unsere Untersuchungen unterstreichen also den organpharmakologischen und speziell den lokalanaesthetischen Wirkungscharakter des Stoffes. Dieser organpharmakologische Charakter ist für die Toxikologie

des Esters in Betracht zu ziehen. Dies gilt einmal im Hinblick auf die lokalanaesthetische Eigenschaft, darüber hinaus für die allergisierende Wirkung, die nicht nur der Penicillinanteil besitzt, sondern die auch dem Gesamtmolekül zugeschrieben werden muß.

Für den praktischen Arzt muß deshalb darüber Klarheit bestehen, daß er primär kein Penicillindepotpräparat im üblichen Sinne, sondern ein chemisch wie pharmakologisch wohldefiniertes „Lokalanaestheticum" injiziert.

Daraus aber ergibt sich die Forderung, daß in diesem und in ähnlichen Fällen nicht nach internationalen Einheiten, sondern nach Milligramm dosiert werden muß.

H. F. Zipf (Bonn): Zur Bewertung der Trachealverschlußreaktion von Head beim Nachweis endoanaesthetischer Wirkungen.

Bei unseren Versuchen zur Prüfung von Stoffen auf ihre endoanaesthetische Wirkung haben wir zwar die bisher geübte elektrophysiologische Methode auf einen routinemäßigen Test vereinfacht und auf ein billiges Versuchstier, das Meerschweinchen, übertragen. In dieser Richtung hat sich besonders Herr Kreppel in unserem Institut bemüht. Wir suchten aber darüber hinaus nach einer einfacheren *Vorprobe*, die es erlaubt, aus einer größeren Reihe von Lokalanaesthetica diejenigen mit guter endoanaesthetischer Wirkung herauszusuchen. Für den Fall der Herzrezeptoren kann man den durch Veratrin einstellbaren Bezold-Jarisch-*Reflex* heranziehen. Für die Wirkung auf Lungenreceptoren erwies sich die *Trachealverschlußreaktion von* Head als geeignet. Hier konnten wir besonders auf den Untersuchungen von Bucher aufbauen.

Verschließt man die Trachea im Zustande der größten Lungenentfaltung, d. h. in Inspirationsstellung, dann überrascht man die Lungendehnungsreceptoren im Stadium der größten Erregung. Die vagalen Afferenzen lösen über die Zentren einen Lungenvolumenreflex aus, der besonders an der Verlängerung der ersten nachfolgenden Exspirationsphase erkennbar ist. Bei Vagusdurchschneidung verschwindet der Reflex.

Beim Kaninchen kann ein solcher *exspiratorisch aktivierender Trachealverschluß* gut ausgelöst werden. Atemfrequenz und -volumen werden hierbei als Körperplethysmogramm aufgenommen. Während der Verschlußzeit erlaubt die Registrierung des Trachealdruckes die Abmessung und prozentuale Erfassung der veränderten Atemphasen. Nach Trachealverschluß in Inspirationsstellung wird die erste folgende Exspiration deutlich verlängert.

Durch 5 mg/kg *Procain-HCl* verkürzt sich die Exspirationsphase, sogar unter die Ausgangslage. Die Physiologie des Trachealverschlusses ist besonders von Bucher behandelt worden. Die Verkürzung der Ex-

spiration durch Novocain konnte er durch eine intravenöse Anaesthesie der Lungendehnungsreceptoren deuten. Sie melden im desensibilisierten Zustande den Zentren eine scheinbar geringere Lungenentfaltung. Unsere eigenen Untersuchungen, in Gemeinschaft mit Herrn Oehler, suchten durch verschiedene Variationen die Reaktion für den Nachweis endoanaesthetischer Wirkungen zu verwenden.

Erwartungsgemäß wird die Trachealverschlußreaktion durch *Veratrin* verlängert. Procain beseitigt diesen Veratrineffekt und verkürzt die Exspirationsphase wieder unter die Norm. Die blockierende Wirkung hält nur wenige Minuten an.

Die Verabreichung von *Morphin-HCl* gibt eine neue Möglichkeit zur Verlängerung der Trachealverschlußreaktion, wie Bucher besonders herausgearbeitet hat. Es wirkt wie eine Durchschneidung im hinteren Drittel der Pons, und es kommt hierdurch zu einer „Enthemmung" der Lungenvagusafferenzen. Die Verlängerung der Trachealverschlußreaktion fällt besonders stark aus. Auch hier wirken 5 mg/kg *Procain-HCl* wiederum verkürzend. Schließlich läßt sich dem Morphineffekt noch die Veratrinwirkung aufsetzen und durch *Procain-HCl* die kombinierte Wirkung ebenfalls reduzieren. Versuche mit *Pantocain* und anderen Lokalanaesthetica ergaben für alle Variationen der Trachealverschlußreaktion die gleichen Effekte.

Die registrierten Kurven lassen sich leicht ausmessen, die Wirkungen als prozentuale Änderungen erfassen und als Zeitwirkungskurven auftragen. Es werden in verschiedenen Kurven die Wirkungen von *Procain*, *Pantocain*, *Lidocain* (Xylocain) gegenüber der normalen Atmung, den durch Veratrin sensibilisierten Lungendehnungsreceptoren, der pontin enthemmten Lungenvagusafferenzen, sowie der Kombination der beiden letzten Variationen gezeigt.

Alle beobachteten Effekte der Lokalanaesthetica lassen sich aus einer Endoanaesthesie der Lungendehnungsreceptoren erklären. Aber wie bei der Antiveratrinwirkung der Lokalanaesthetica beim Kollaps des Bezold-Jarisch-Reflexes muß an zusätzliche Angriffsstellen gedacht werden. Auf dem Reflexwege der Trachealverschlußreaktion schalten sich die Synapsen der Zentren und der peripheren Ganglien, die Endapparate und das Erfolgsorgan hinzu. Es sind Stoffe denkbar, die sowohl an Lungenreceptoren endoanaesthetisch wirken, als auch die Inspirationsmechanismen im rostralen Teil der Pons verstärken. Die Verkürzung der Exspirationsphase wäre dann nicht allein einer Endoanaesthesie zuzuschreiben. Den endgültigen Beweis für endoanaesthetische Wirkungen kann somit nur die elektrophysiologische Methode geben.

Die Untersuchungen zeigen aber ein so völliges Parallelgehen von lokalanaesthetischer Wirkung, Verkürzung der exspiratorischen Trachealverschlußreaktion und elektrophysiologischem Nachweis der Endoanaes-

thesie, daß aus diesem Grunde die Headsche Trachealverschlußreaktion als Vorprobe geeignet ist, Stoffe auf fragliche endoanaesthetische Wirkung zu prüfen. Sie ist außerdem leicht und schnell mit einfachen Mitteln durchzuführen.

Kl. Unna (Chicago/USA): Selektive Wirkungen einiger Pharmaka auf die Schaltneurone.

(Manuskript nicht eingegangen.)

H. Konzett und E. Rothlin (Basel): Die Wirkung von Veratrum-Alkaloiden auf ein sympathisches Ganglion.

Ester-Alkaloide aus der Veratrumgruppe lösen durch direkte Wirkung auf das Nebennierenmark die Freisetzung von Adrenalin aus[9, 8]. Bei der nahen entwicklungsgeschichtlichen Verwandtschaft zwischen Nebennierenmark- und sympathischen Ganglienzellen[5] erhebt sich die Frage, ob solche Veratrum-Alkaloide nicht auch eine entsprechende Erregung sympathischer Ganglien hervorrufen können. Für eine Reihe von Wirkstoffen ist nämlich eine gleichsinnige Erregung bzw. Lähmung dieser beiden Strukturen des efferenten vegetativen Systems festgestellt worden[7].

Die Durchströmung des oberen sympathischen Halsganglions der Katze (Methode nach Kibjakow[4]) ergibt eine besonders geeignete Versuchsanordnung zum Nachweis ganglionärer Effekte. Als Erfolgsorgan synaptotroper Wirkungen dient die Nickhaut, die über die intakten postganglionären Nervenfasern die Impulse vom Ganglion cervicale superius erhält. Ihre Kontraktionen werden isotonisch registriert. Falls die präganglionären Nervenfasern einige Tage oder Wochen vor dem Durchströmungsexperiment durchtrennt werden, handelt es sich um ein denerviertes Ganglion.

Untersucht wurden Veratrin, ein Alkaloidgemisch, das vorwiegend Veratridin und Cevadin enthält, Protoveratrin bestehend aus Protoveratrin A und Protoveratrin B sowie die Reinalkaloide Protoveratrin A, Protoveratrin B, Veratridin und Germerin. Beim Veratridin und Cevadin handelt es sich um Monoester-Alkaloide, beim Germerin um ein Diester-Alkaloid und beim Protoveratrin A bzw. Protoveratrin B um Tetraester-Alkaloide.

Die Wirkung dieser Alkaloide bzw. Alkaloidgemische am isoliert durchströmten innervierten und denervierten Halsganglion war abhängig von der Dosierung. So hatte z. B. Veratrin in Gaben von 0,5 μg nur gelegentlich eine geringe manifeste Eigenwirkung (Nickhautkontraktion), verstärkte aber regelmäßig, und zwar kurzdauernd, den Effekt nachfolgender submaximaler Gaben von Acetylcholin, Nicotin und KCl. In der Dosie-

rung von 1—50 μg löste Veratrin Nickhautkontraktionen aus, die jedoch nicht streng dosenabhängig waren, da eine Erhöhung der Dosis über 5 μg die Nickhautkontraktion in der Regel nicht weiter verstärkte. Nach Dosen von 1 und 5 μg war die Potenzierung der Acetylcholinwirkung noch nachweisbar; nach 20 und 30 μg erfolgte eine Abnahme der Acetylcholinwirkung; nach 50 μg war der Acetylcholineffekt völlig gehemmt.

Die Reinalkaloide Veratridin, Protoveratrin A und Protoveratrin B sowie Germerin verhielten sich grundsätzlich ähnlich, was Sensibilisierung und Abschwächung des Acetylcholineffektes sowie Eigenwirkung anbelangt. In kleinen Dosen (0,25—3 μg) bewirkten alle diese Alkaloide eine kurzdauernde Verstärkung der Wirkung nachfolgender submaximaler Acetylcholingaben, lösten aber selbst nur gelegentlich eine Nickhautkontraktion aus. Erhöhung der Dosis auf 5—100 μg hatte eine Eigenwirkung zur Folge, die aber über ein gewisses Ausmaß auch bei Dosissteigerung nicht zunahm. Der Effekt nachfolgender Acetylcholingaben wurde nach 5 und 10 μg dieser Alkaloide in der Regel kurzdauernd verstärkt, nach höheren Dosen jedoch abgeschwächt. Auffällig war, daß bei wiederholter Gabe sowohl die Acetylcholin-verstärkende als auch die Eigenwirkung eher abnahm und selbst eine Dosissteigerung nach 2- bis 3stündiger Versuchsdauer meistens nur eine geringe oder keine Wirkungszunahme mehr bewirkte.

Soweit verschiedene Reinalkaloide in einem und demselben Versuch vergleichend geprüft werden konnten, erwies sich Veratridin den anderen Alkaloiden meistens hinsichtlich Eigenwirkung und Acetylcholinverstärkung etwas überlegen. Manchmal waren auch Unterschiede der Art zu beobachten, daß Veratridin die Acetylcholinwirkung vorwiegend hinsichtlich Intensität, Protoveratrin aber hinsichtlich Dauer verstärkte.

Aus diesen Befunden geht aufs neue die gleichsinnige Beeinflußbarkeit von Nebennierenmark- und sympathischen Ganglienzellen hervor. Überdies geben diese Versuche einen weiteren Hinweis darauf, daß Wirkstoffe mit Angriffspunkt an afferenten Nervenendigungen auch eine efferente Nervenstruktur beeinflussen können[7].

Worauf diese Wirkung am Ganglion beruht, ist aus den vorliegenden Befunden nicht zu ersehen. Der Angriffspunkt muß jedenfalls an den Ganglienzellen oder am Beginn der postganglionären Fasern liegen, die nach präganglionärer Denervierung erhalten bleiben und von der Durchströmungsflüssigkeit erreicht werden. Für die Verstärkung des Acetylcholineffektes durch Veratrin könnte die Hemmung der Cholinesterase maßgebend sein[10]. Allerdings wird die Potenzierung des Nicotin- und KCl-Effektes dadurch nicht erklärt.

Für den blutdrucksenkenden Effekt der Ester-Alkaloide aus der Veratrumgruppe ist die oben beschriebene synaptotrope Wirkung wahrscheinlich ohne Belang. Die für die Drucksenkung hauptsächlich maßgebenden

Receptoren im Herzen[2, 11] und im Carotissinus[1] sind zweifellos empfindlicher gegenüber diesen Alkaloiden als die sympathischen Ganglienzellen bzw. die postganglionären Fasern, die erst durch sehr hohe Dosen gelähmt werden. Doch könnte die drucksteigernde Wirkung dieser Körper, die bei Verwendung großer Dosen nach Vagusausschaltung[8] und bei Verwendung kleiner Dosen nach Vagusausschaltung mit gleichzeitiger Denervierung des Carotissinus[3] sowie am Spinaltier[8] beobachtet wird, durch eine Erregung sympathischer Ganglien, unbeschadet der Freisetzung von Nebennierenmarkhormonen, mitbedingt sein. Die komplexe Wirkungsweise der Veratrumalkaloide erhält so eine weitere Erklärungsmöglichkeit.

Schließlich sei auf die merkwürdige Ähnlichkeit der synaptotropen Wirkung dieser Veratrumalkaloide mit der herzwirksamer Glykoside[6] hingewiesen. Diese sensibilisieren in kleinsten Dosen ebenfalls für Acetylcholin und bewirken in hohen Dosen eine Lähmung der Ganglienzellen[6]. Auch am Herzen wirken beide Stoffklassen ähnlich, nämlich positiv inotrop und negativ chronotrop[11].

Literatur.

[1] Aviado, D. M., R. G. Pontius and C. F. Schmidt: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **97**, 420 (1949). — [2] Dawes, G. S.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **89**, 325 (1947). — [3] Fernandez, E., et A. Cerletti: Arch. internat. Pharmacodynamie (im Druck). — [4] Kibjakow, A. W.: Pflügers Arch. **232**, 432 (1933). — [5] Kohn, A.: Arch. mikrosk. Anat. u. Entw.mechan. **62**, 263 (1903). — [6] Konzett, H., et E. Rothlin: Arch. internat. Pharmacodynamie **89**, 343 (1952). — [7] Konzett, H., et E. Rothlin: Experientia (Basel) **9**, 405 (1953). — [8] Krayer, O., and H. Acheson: Physiologic. Rev. **26**, 383 (1946). — [9] Kusnetzow, A. J.: Z. exper. Med. **48**, 679 (1926). — [10] Nachmansohn, D., and H. Schneemann: J. of Biol. Chem. **159**, 239 (1945). — [11] Rothlin, E., u. A. Cerletti: Schweiz. med. Wschr. **1954**, 137.

Diskussion. Fleckenstein (Heidelberg): Die Befunde können elektro-physiologisch gut interpretiert werden: In geringer Dosis „labilisiert" Veratrin die erregbaren Membranen, ohne selbst zu depolarisieren, d. h. es verstärkt den Effekt depolarisierender Substanzen (Acetylcholin, Nicotin, KCl). In höherer Dosis depolarisiert Veratrin selbst sehr stark, z. B. auch an Muskel und Nerv. Eine zusätzliche Depolarisation durch Acetylcholin, Nicotin, KCl ist dann unter Umständen nicht mehr möglich; Acetylcholin, Nicotin, KCl werden dann wirkungslos. Es wird angefragt, ob die Hemmung der Acetylcholin- und Nicotinwirkung bei Steigerung der Veratrin-Dosis früher beobachtet wird als die Abschwächung des KCl-Effekts.

Zipf (Bonn): Die geschilderten zwei Wirkungsphasen der Veratrumalkaloide am Halsganglion, zuerst Sensibilisierung für typische Ganglienerreger, dann lähmende ganglionäre Wirkung sind ein Beispiel der allgemeinen Grundwirkungen dieser Stoffe. Sie entsprechen sozusagen dem Ablauf der „Anaesthesia dolorosa". Auch an inneren sensiblen Receptoren, z. B. Lungendehnungsreceptoren, läßt sich diese Folge zeigen: Veratrindauerinfusion führt zuerst zur kontinuierlichen Aussendung von Aktionsströmen durch diese Receptoren, daran anschließend zu einer deutlichen Abflachung der Aktionsimpulse (Endoanaesthesie). Auch die sogenannte „Tachyphylaxie", die sich als Unwirksamwerden wiederholter, sonst depressorisch und bradykardisch wirksamer Veratrindosen am Blutdruck zeigt, kann, soweit die

Receptoren betrachtet werden, als eine weitere Form der Endoanaesthesie, als eine (Depolarisations-) Endoanaesthesia katelectrotonica („dolorosa") angesehen werden.

Holtz (Frankfurt): Wie wird der Effekt der elektrischen präganglionären Reizung an der Nickhaut durch Veratrum beeinflußt?

Reinert (London): W. L. M. Perry und ich konnten zeigen, daß Methoniumverbindungen am chronisch denervierten Halsganglion nicht mehr hemmend wirken, sondern eine Eigenerregung hervorrufen und die erregende Wirkung von Acetylcholin verstärken. Den gleichen Effekt wie chronische Denervierung konnten wir am normalen Ganglion dadurch erzielen, daß wir das Ganglion mit kaliumionenfreier Locke-Lösung durchströmten. Während unter diesen Bedingungen die präganglionäre Erregung durch Hexamethonium gehemmt ist, wird die Reaktion injizierten Acetylcholins gesteigert. Die durch chronische Denervierung und Reduktion der Kaliumionenkonzentration hervorgerufene Reaktionsumkehr der Methoniumverbindungen scheint auf Änderungen des ganglionären Stoffwechsels zu beruhen.

Schlußwort. Konzett: Die Frage, ob die Hemmung der Acetylcholin- und Nikotinwirkung durch Veratrin früher erfolgt als die Abschwächung des KCl-Effektes, ist nicht sicher zu beantworten. Der Effekt einer präganglionären elektrischen Reizung an der Nickhaut wird durch Veratrumalkaloide in niederer Dosierung ebenfalls verstärkt, allerdings nicht so ausgeprägt wie die Wirkung von injiziertem Acetylcholin.

H. Kaller (Göttingen): Der Musculus orbitalis und das obere Halsganglion der Ratte als pharmakologische Testobjekte.

Der Musculus orbitalis (Müllerscher Augenmuskel) wird vom Halssympathicus innerviert. Die Impulse werden im oberen Halsganglion umgeschaltet. Die Kontraktion des Muskels bewirkt eine Protrusion des Augapfels. Bei der Ratte ist diese Protrusion sehr deutlich ausgeprägt: Sie kann bis zu etwa 2—3 mm betragen. Eine maximale Protrusion läßt sich nur durch Injektion relativ hoher Adrenalindosen auslösen. Bei elektrischer Reizung des Halssympathicus beträgt sie nur selten mehr als 1—1,5 mm. Die Protrusion ist eine quantitativ gestufte Reaktion. Sie läßt sich leicht und exakt registrieren.

Grundsätzlich dürften am M. orbitalis der Ratte die gleichen Methoden durchführbar sein wie an der Nickhaut der Katze. Der praktischen Durchführbarkeit sind allerdings durch die anatomischen Gegebenheiten Grenzen gesetzt.

Es wird über eine Versuchstechnik berichtet, bei der neben der präganglionären Reizung die lokale Aufbringung von Lösungen auf das obere Halsganglion möglich ist. Trotz der primitiv erscheinenden Applikationsart der zu prüfenden Substanzen liefert diese Technik recht gute quantitative Ergebnisse: Durch die Messung der prozentualen Verminderung des Reizerfolges nach Aufbringung verschiedener Konzentrationen der geprüften Substanz ergibt sich eine Konzentrationswirkungskurve, die

gut reproduzierbar ist. Der Versuch ist technisch leicht auszuführen, und deshalb erscheint diese Versuchsanordnung besonders gut zur routinemäßigen Prüfung von Substanzen mit ganglienblockierender Wirkung geeignet.

In Urethan-Narkose (1,75 g/kg) wird der rechte Gefäßnervenstrang des Halses in seiner ganzen Ausdehnung freigelegt. Der Strang wird über eine Strecke von 1—1,5 cm Länge mitsamt dem umgebenden Bindegewebe mobilisiert. Das mobilisierte Bündel enthält dann die A. carotis, die Vv. laryngicae sup. und inf., den N. vagus und den Sympathicus. Da am lebenden Tier eine Isolierung des Halssympathicus nicht möglich ist, wird der gesamte Gefäßnervenstrang auf die Reizelektroden gelegt. Der N. vagus wird dicht über dem Schlüsselbein und in Höhe der Teilungsstelle der Carotis durchschnitten, um Störungen des Versuches durch afferente und efferente Vagusimpulse auszuschalten. — Zur Freilegung des oberen Halsganglion wird (nach Unterbindung und Durchtrennung der A. thyreoidea sup.) die A. carotis externa oberhalb des Ganglion mit einem Faden angeschlungen und nach lateral gezogen. Eine vorsichtige Ablösung der Carotiden von der hinteren Halsmuskulatur läßt das Ganglion sichtbar werden, das als spindeliges, glasiges Gebilde in Höhe oder dicht über der Teilungsstelle der Carotis liegt. Die Fixierung des nach lateral leicht angespannten Haltefadens macht das Ganglion von außen frei zugänglich.

Die Reizung des Halssympathicus erfolgt durch Rechteckimpulse mit einer Frequenz von 2—5 Hz. Die Dauer des Einzelimpulses liegt zwischen 0,1 und 0,2 msec, die Stromstärke beträgt (je nach der zufälligen Lage des Sympathicus zu den Elektroden) 0,2 bis 2 mA. Es wird regelmäßig alle 3 min jeweils 30 sec lang gereizt.

Die Lösung der zu prüfenden Substanz wird auf das Ganglion aufgebracht, indem man ein mit der Lösung getränktes Stückchen Filterpapier auflegt. Nach etwa 5 min hat bei den bisher geprüften Substanzen die Wirkung des Pharmakons ihren Höchstwert erreicht. Wird das Filterblättchen dann wieder entfernt und die am Gewebe haftende Lösung abgetupft, so erlangt das Ganglion meist schon nach etwa 10 min Erholungszeit wieder seine volle Erregbarkeit, auch wenn es vorher total blockiert gewesen war. An einem Versuchstier konnten bis zu 25 derartiger Testungen durchgeführt werden.

Die Registrierung der Bewegungen des Augapfels erfolgt mit Hilfe eines kleinen Hebels, der mit einer Pelotte der Cornea leicht aufliegt. An dem Hebel ist ein kleiner Spiegel befestigt, durch welchen ein Lichtstrahl abgelenkt wird. Die Aufzeichnung der Kurve geschieht dann unmittelbar durch ein Photo-Kymographion. Durch ein geeignetes Hebelsystem kann die Registrierung auch auf einer Rußtrommel erfolgen.

Diskussion. v. Brücke (Wien): Es wäre vielleicht ein Vorteil, den Kehlkopf und Pharynx zu exstirpieren. Das Bepinseln der Ganglien hat den Nachteil, daß man große Konzentrationen braucht und unspezifische Wirkungen schwerer auszuschließen sind als bei intraarterieller Injektion bei Katzen.

Kraupp (Wien): Bei unseren Versuchen mit starken Cholinesterase-Hemmstoffen konnten wir beobachten, daß nach i.v. Injektion der Anticholinesterasen an Ratten, noch vor Auftreten der Chromodakryorrhoe, ein starkes Hervorquellen der Bulbi auftrat. Dieses Verhalten ist nach den Ausführungen des Vortragenden sicher durch eine nicotinartige Erregung des Cervicalganglions bedingt und könnte mit der mitgeteilten Methode quantitativ verfolgt werden.

Schlußwort. Kaller: Die lokale Aufbringung von Substanzen kann nur zur Vorprüfung dienen und soll eine exakte pharmakologische Analyse keineswegs überflüssig machen. Unspezifische Wirkungen, vor allem lokalanaesthetische Wirkungen, müssen durch geeignete andere Methoden ausgeschlossen werden. — Die intraarterielle Injektion könnte durch die A. carotis externa möglich sein. Über die experimentellen Möglichkeiten, die der M. orbitalis und das Halsganglion der Ratte bieten, kann noch nichts Abschließendes gesagt werden. — Zur Protrusion nach Injektion von Anticholinesterasen wäre zu bedenken, daß diese Protrusion auch durch eine Adrenalinausschüttung bedingt sein könnte.

U. Trendelenburg (Oxford/England): Die Wirkung von Histamin und Pilocarpin auf sympathische Ganglien und Nebennieren.

Frühere Versuche[2, 3] an durchströmten Präparaten führten zu der Annahme, daß Histamin keine oder nur ausnahmsweise eine Reizwirkung auf sympathische Ganglien besitze. Kürzlich veröffentlichte Beobachtungen[1] ließen es jedoch möglich erscheinen, daß das im Kreislauf belassene obere Halsganglion der Katze durch Histamin oder Pilocarpin gereizt werden kann.

Bestätigt wurde dies durch die Beobachtung, daß nach Abbinden der Nebennieren intravenöse Injektionen dieser Substanzen eine Kontraktion der normalen Nickhaut auslösen, nicht aber der anderen Seite, auf der zu Beginn des Versuches das Ganglion entfernt wurde. Da die präganglionären Fasern der normalen Seite durchschnitten waren, kann nur das Ganglion für die beobachtete Kontraktion der normalen Nickhaut verantwortlich gemacht werden.

Die gleiche ganglienreizende Wirkung trat nach intraarteriellen Injektionen von 2—50 μg Histamin oder Pilocarpin in den zentralen Stumpf der A. lingualis auf. Eine direkte Wirkung dieser Substanzen auf die Nickhaut, eine Mitbeteiligung der Nebennieren und eine unspezifische Reizung des Ganglions wurden ausgeschlossen. Mit dieser Methode wurde die Wirkung verschiedener Substanzen auf die durch Histamin und Pilocarpin hervorgerufene Reizung des oberen Halsganglions untersucht: Hexamethonium hemmte nicht in Dosen, die die Überleitung im Ganglion blockierten; Nicotin hemmte in lähmenden Dosen; kleine Mengen Cocain,

die die Überleitung im Ganglion nicht beeinflußten, hemmten die Wirkung von Histamin und Pilocarpin. Atropin hob selektiv die Wirkung von Pilocarpin auf, Neoantergan ebenso selektiv die von Histamin. Ferner wurde beobachtet, daß sowohl Histamin als auch Pilocarpin nicht nur das Ganglion zu reizen vermögen, sondern auch zu einer verstärkten Wirkung präganglionärer Reizung führten.

Intraarterielle Injektionen von Histamin und Pilokarpin in den zentralen Stumpf der A. coeliaca führten zu einer Ausschüttung von Sympatin aus den Nebennieren, wenn die Aorta unterhalb der Nieren abgebunden war. Während beide Substanzen am oberen Halsganglion ungefähr gleiche Wirksamkeit besaßen, war Histamin an den Nebennieren etwa 50mal wirksamer als Pilocarpin. Hexamethonium, Nicotin, Atropin und Neoantergan verhielten sich in bezug auf die Reizung der Nebennieren durch Histamin und Pilocarpin wie am oberen Halsganglion. Im Gegensatz dazu hemmten selbst hohe Dosen Cocain nicht die Ausschüttung von Sympathin aus den Nebennieren.

Diese Ergebnisse bestätigten, daß Histamin das obere Halsganglion der Katze zu reizen vermag, wenn dieses im Kreislauf belassen wird. Diese ganglionäre Wirkung läßt es möglich erscheinen, daß Histamin an der Regulierung des autonomen Nervensystemes mitbeteiligt ist.

Die Ergebnisse werden im Brit. J. Pharmacol. veröffentlicht werden.

Literatur.

[1] Burn, J. H., and U. Trendelenburg: Brit. J. Pharmacol. 9, 202 (1954). — [2] Feldberg, W., and A. Vartiainen: J. of Physiol. 83, 103 (1935). — [3] Konzett, H.: J. Mt. Sinai Hosp. 19, 149 (1952).

W. Kobinger und O. Kraupp (Wien): Über die Wirkung von Eserin am d-Tubocurarin-gelähmten Rattenzwerchfell in Gegenwart depolarisierender Muskelrelaxantien.

Die in letzter Zeit von Cheymol und an unserem Institut erstmalig untersuchte Substanzklasse der Polymethylen-Biscarbaminoylcholine zeichnete sich neben einer starken neuromuskulär lähmenden Wirkung durch eine beträchtliche in vitro-Hemmwirkung gegenüber beiden Cholinesterasetypen aus. Es war nun auffallend, daß diese Verbindungen keinerlei muscarinartige Wirkungen am Ganztier zeigten, obwohl die Hemmwirkung auf die Acetylcholinesterase bei den stärkst wirksamen Substanzen in der Größenordnung des Eserins lag. Unsere weiteren Untersuchungen befaßten sich nun mit der Frage, ob das in vitro am stärksten hemmende Octamethylen-Biscarbaminoylcholin (BC 9) ähnlich wie gegenüber den muscarinartigen Wirkungen auch keinerlei Potenzierung der nicotinartigen Wirkungen des Acetylcholins an der durch d-Tubocurarin

(d-TC) gelähmten Muskelendplatte zeigt. Die hierzu notwendigen experimentellen Untersuchungen wurden am Phrenicus-Zwerchfellpräparat der Ratte in der Anordnung nach Bülbring ausgeführt (Reizfrequenz 6/min, Ringer-Bad 50 cm^3).

Zunächst suchten wir nach einer geeigneten Versuchsanordnung um einen Antagonismus zwischen d-TC und Cholinesterase-Hemmkörper möglichst optimal und bei Wiederholung reproduzierbar darzustellen. Dies konnte am besten dadurch erreicht werden, daß der Zwerchfellmuskel zuerst mit d-TC vollständig gelähmt und hernach mit Eserin versetzt wurde. Zur Erreichung einer maximalen Eserinwirkung waren 2 bis 3 μg Eserin/50 cm^3 voll ausreichend. Eine Durchführung des gleichen Versuches mit BC 9 anstelle von Eserin ergab bei gleicher molarer Dosierung nicht die geringsten Anzeichen einer Anticurarewirkung des BC 9. Demnach war bei BC 9 trotz seiner starken Cholinesterase-Hemmwirkung in vitro am Zwerchfellpräparat keine Anticurarewirkung zu beobachten, wie sie für Eserin unter Einhaltung der gleichen Versuchsbedingungen jederzeit nachzuweisen war. Eserin war auch imstande, nach vollständiger Lähmung mit d-TC trotz nachfolgendem BC 9-Zusatz ein Wiederauftreten der Muskelkontraktionen hervorzurufen. An insgesamt 12 solchen Versuchen, bei denen nach vollständiger Lähmung durch d-TC verschiedene BC 9-Dosen und nach weiteren 3 min 5 μg Eserin zugesetzt wurden, zeigte sich nun eine lineare Abhängigkeit der nach Eserin erreichten Kontraktionshöhe von dem Verhältnis der angewandten d-TC- zur BC 9-Konzentration in dem Sinne, daß die Eserinerholung mit steigendem BC 9-Überfluß immer geringer wurde. Die aus der angeführten Versuchsreihe hervorgehende Tatsache, daß BC 9 in steigendem Zusatz zur kompletten d-TC-Lähmung zu einer immer geringeren Anticurarewirkung von Eserin führte, legte uns die Vermutung nahe, daß BC 9 das ursprünglich an den Endplatten sitzende d-TC verdrängt. Auf diese Weise wird dann der mit d-TC besetzte Teil der Endplatte mit steigender BC 9-Konzentration immer kleiner und dadurch die durch Eserin bewirkte Erholung, die ja hauptsächlich auf einer Anticurarewirkung beruht, immer geringer. Wir haben nun versucht, aus den quantitativen Ergebnissen unserer Versuche mittels einfacher mathematischer Ableitungen einen Hinweis über die Lage eines allenfalls vorhandenen Grenzflächengleichgewichtes zwischen d-TC und BC 9 an der Muskelendplatte zu erhalten. Die genaue Ausführung der mathematischen Ableitung wird in Kürze veröffentlicht werden. Dabei konnten wir aus allen 12 Einzelversuchen gut übereinstimmende Werte für das Verhältnis der Gleichgewichtskonstanten von d-TC und BC 9 erhalten. Der Mittelwert aus 12 Versuchen lag annähernd bei 3,0, was damit gleichbedeutend wäre, daß d-TC eine annähernd 3mal stärkere Affinität zur Endplatte besitzt als BC 9. In guter Übereinstimmung damit verhalten sich die Wirkungsstärken der neuromuskulä-

ren Lähmung von d-TC und BC 9 am Rattenzwerchfell tatsächlich auch wie 3:1.

Die Annahme eines Verdrängungsgleichgewichtes zwischen d-TC und BC 9 an der Endplatte wurde in weiteren Versuchen dadurch wahrscheinlich gemacht, daß es möglich war, nach vorheriger vollständiger BC 9-Lähmung und nachfolgendem d-TC-Zusatz (also Umkehr der zeitlichen Reihenfolge der Zusätze in den oben angeführten Versuchen) eine Eserin-Antagonisierbarkeit zu erreichen. In diesen Versuchen mußte es zu einer Verdrängung von BC 9 durch d-TC gekommen sein, was gleichzeitig als Beweis für die Reversibilität der zum Gleichgewicht führenden Verdrängungsvorgänge gewertet werden kann. Einige orientierende Untersuchungen, in denen Decamethonium (C 10) anstelle von BC 9 an den oben beschriebenen Versuchsanordnungen untersucht wurde, ergaben bisher, daß sich C 10 ähnlich wie BC 9 verhält und sich anscheinend nur durch den Grad seiner Affinität zur Zwerchfellendplatte von BC 9 unterscheidet.

E. Westermann (Frankfurt a. M.): Untersuchungen am isolierten Vorhof mit körpereigenen Cholinestern.

Banister und Mitarbeiter wiesen vor kurzem in der Milz neben *Acetylcholin Propionylcholin* nach. Untersuchungen unseres Institutes führten zu dem Ergebnis, daß in Gehirnextrakten neben Acetylcholin wahrscheinlich auch *Butyrylcholin* vorkommt. Im folgenden wird über Versuche berichtet, in denen die Wirkung dieser drei körpereigenen Cholinester am Vorhofpräparat von Kaninchen-, Meerschweinchen- und Rattenherzen untersucht wurde.

Am Meerschweinchenvorhof hat *Acetylcholin* einen rein negativ inotropen Effekt, der bei hoher Dosierung das Vorhofpräparat zum Stillstand bringt. *Propionylcholin* wirkt demgegenüber zweiphasisch: an einen primär negativ inotropen schließt sich ein positiv inotroper Effekt an. *Butyrylcholin* hat eine rein positiv inotrope Wirkung. — Auch die Frequenz wird unterschiedlich beeinflußt: während Acetylcholin einen Herzstillstand verursacht, haben sowohl Propionylcholin als auch Butyrylcholin eine stark positiv chronotrope Wirkung.

Nach Zusatz von *Ganglienblockern* (Pendiomid, Hexamethonium) bleibt die Acetylcholinwirkung unbeeinflußt. Die positiv inotrope und chronotrope Wirkung der beiden anderen Cholinester wird dagegen vollständig aufgehoben. — Nach *Atropinisierung* wird umgekehrt die negativ inotrope Acetylcholinwirkung, die bei hoher Dosierung zum Herzstillstand führte, nicht nur vollständig aufgehoben, sondern in eine rein positiv inotrope und chronotrope Wirkung umgekehrt. Die positiv inotrope und chronotrope Wirkung des Propionyl- und Butyrylcholins tritt nach

Atropin verstärkt in Erscheinung. Durch Atropinisierung einerseits und Vorbehandlung mit Ganglienblockern andererseits ist es somit möglich, am Vorhofpräparat eine Differenzierung der muscarin- und nicotinähnlichen Wirkungskomponente zu erreichen.

In weiteren Untersuchungen wurde geprüft, ob die spontan zum Stillstand gekommene Automatie des isolierten Vorhofpräparates sich nur durch Acetylcholin (Bülbring u. Burn) oder auch — und vielleicht besser — durch das überwiegend nicotinartig wirkende Propionylcholin oder Butyrylcholin wiedererwecken läßt. — Am Rattenvorhof, der nach 24—36stündigem Schlagen hypodynam geworden ist, hat Acetylcholin nur noch eine schwache inhibitorische Wirkung. Wartet man noch länger ab, so wirkt die gleiche Acetylcholindosis nicht mehr negativ, sondern deutlich positiv inotrop. Ist das Vorhofpräparat schließlich zum Stillstand gekommen, so vermag jetzt Acetylcholin den Vorhof wieder zum Schlagen zu bringen, wie in den Versuchen Burns am Kaninchenvorhof. Das gelingt auch mit Eserin oder Prostigmin, also durch Hemmung der Cholinesterase. Wäre die Wiedererweckung der Vorhofautomatie durch die nicotinartige Wirkungskomponente des Acetylcholins verursacht, so müßten Propionyl- und Butyrylcholin in weit geringerer Dosierung den gleichen Effekt hervorrufen. Tatsächlich waren aber 1—200fach höhere Dosen erforderlich.

Es ist deshalb anzunehmen, daß nicht die nicotinartige, sondern die muscarinartige Wirkungskomponente der Cholinester für den Effekt verantwortlich zu machen ist. Dafür sprechen auch Versuche mit Nicotin, Atropin und Pendiomid: Nicotin vermag trotz seiner stark positiv inotropen Wirkung am normal schlagenden, den zum Stillstand gekommenen Vorhof nicht wiederzuerwecken. Atropin, das am normal schlagenden Vorhof die *negativ* inotrope Wirkung des Acetylcholins aufhebt, verhindert am stillstehenden Vorhof auch die *positiv* inotrope wiedererweckende Acetylcholinwirkung, während Pendiomid mit seiner ganglionär blockierenden Eigenschaft in beiden Fällen die Acetylcholinwirkung unbeeinflußt läßt.

H. J. Schümann (Frankfurt a. M.): Über die acetylcholinähnliche Wirksamkeit von Gehirnextrakten.

Veranlassung zu unseren Untersuchungen gab die Beobachtung, daß die cholinergische Wirksamkeit von Gehirnextrakten bei der Testung an verschiedenen Testobjekten sich nicht mit Acetylcholin als alleinigem Wirkstoff erklären ließ und ferner die Überlegung, daß ein Cholinester von überwiegend nicotinartiger Wirksamkeit für die Ausübung physiologischer Funktionen besonders da geeignet sein würde, wo man bisher die nicotinartige Wirkungskomponente des Acetylcholins in Anspruch nahm.

Ester mit starker Nicotin- und geringer Muscarinwirkung sind die nächst höheren Homologen des Acetylcholins: Propionyl- und Butyrylcholin.

Gereinigte salzsaure alkoholische Extrakte aus Rindergehirn wurden ascendierend mit Partridge-Gemisch chromatographiert. Als Vergleichsteste liefen Gemische reinen Acetyl-, Propionyl- und Butyrylcholins mit. Die Ester wurden durch Behandlung mit Joddämpfen dargestellt. Die ermittelten R_f-Werte stimmten mit den Angaben der Literatur überein. Im Hauptversuch wurden dann die den entwickelten Chromatogrammen der einzelnen Cholinester entsprechenden Papierzonen streifenförmig ausgeschnitten und eluiert.

Die biologische Austestung der Eluate am Froschrectus und Meerschweinchendarm ergab an beiden Testobjekten gleiche Wirksamkeit wie die Testdosis Acetylcholin für das „Acetylcholin-Eluat" des Gehirnextraktes, d. h. also des Eluates, das durch Elution des dem R_f-Wert für Acetylcholin entsprechenden Papierstreifens gewonnen war. Die Austestung des „Butyrylcholin-Eluates" ergab dagegen Wirksamkeit nur am Froschrectus, Unwirksamkeit auch bei höherer Dosierung am Darm. Die Wirkung ließ sich durch Cholinesterase aufheben.

Somit spricht sowohl das papierchromatographische Verhalten der Gehirnextrakte als die biologische Wirkung der Eluate dafür, daß der Gehirnextrakt neben Acetylcholin auch Butyrylcholin enthält.

H. Kewitz (Berlin-Dahlem): Über die Aktionssubstanz in sympathischen Ganglien.

Für das Verständnis der zu schildernden Untersuchungen sind zwei Befunde aus vorangegangenen Arbeiten[4, 5, 6] von Bedeutung.

1. Am isoliert durchströmten oberen Halsganglion der Katze wird die erregende Acetylcholinwirkung durch 0,5—5 γ Scopolamin oder andere anticholinergische Pharmaka gehemmt, die Übertragung elektrisch präganglionär ausgelöster Erregungen jedoch nicht beeinflußt.

2. Adrenalin verstärkt die Acetylcholinerregung und hemmt die Übertragung elektrisch erzeugter Erregungen.

Auf Grund dieser und einiger anderer Befunde haben wir Zweifel an der Richtigkeit der Acetylcholintheorie in ihrer allgemeinen Formulierung geäußert. Gegen unsere Auffassung war unter anderem einzuwenden, daß die Wirkung des über die Gefäßbahn zugefügten Acetylcholins nicht ohne weiteres derjenigen gleichgesetzt werden kann, die durch das bei der Erregung freigesetzte Acetylcholin hervorgerufen wird. Zur Klärung dieser Frage wurde geprüft, wie Scopolamin und Adrenalin Erregungen beeinflussen, die durch andere über die Gefäßbahn zugefügte Substanzen hervorgerufen werden. Als erregende Pharmaka dienten KCl, Nicotin und 2 Cholinderivate. Eine der Cholinverbindungen hat Lactonstruktur. Sie

wurde von Schmidt in Freiburg synthetisiert und von Enders[1] pharmakologisch untersucht. Die andere Cholinverbindung ist das von Erspamer[2] aus den Hypobranchialdrüsen von Schnecken extrahierte Murexin. Dabei handelt es sich um den Urocaninsäurecholinester. Beide Substanzen haben im Gegensatz zum Acetylcholin fast nur nicotinartige Wirkungen und kaum muscarinähnliche. Am Ganglion ist die Lactonverbindung etwas weniger und Murexin etwa so wirksam wie Acetylcholin. Außerdem stand die dem Murexin entsprechende gesättigte Verbindung, das Dihydromurexin oder Imidazol-propionsäure-cholinester zur Verfügung. Diese Substanz wirkt am Ganglion sogar etwas stärker als Acetylcholin.

Die Prüfung ergab, daß die Nicotinwirkung, die durch Kaliumionen erzeugte Erregung und die Wirkung der Lactonverbindung durch Scopolamin genau so wie der Acetylcholineffekt aufgehoben werden. Die Murexinwirkung dagegen wird nicht gehemmt, verhält sich also wie die Übertragung der elektrisch ausgelösten Erregung. Auch bei dem 2. Test, der Beeinflussung durch Adrenalin, entsprach die Veränderung der Murexinwirkung derjenigen elektrisch ausgelöster Erregungen, d. h. sie wurde abgeschwächt. Damit ist gezeigt, daß es in sympathischen Ganglien einen Erregungsmechanismus gibt, der in den angeführten pharmakologischen Testen so reagiert wie der Überträgermechanismus elektrisch ausgelöster Erregungen, jedoch anders als die Acetylcholinwirkung.

Da Urocaninsäure als Zwischenprodukt des Histidinabbaues im Warmblüter vorkommt, ist grundsätzlich die Möglichkeit der Esterbildung mit Cholin gegeben. Wir haben deshalb damit begonnen, Halsganglien und Gehirn von Pferden und Rindern nach verschiedenen Methoden zu extrahieren und mit papierchromatographischen und biologischen Verfahren zu analysieren. Die Ergebnisse gestatten allerdings noch keine eindeutige Aussage über das Vorkommen oder Fehlen des Urocaninsäurecholinesters oder einer ähnlichen Verbindung. Die zu erwartenden Mengen liegen natürlich an der Grenze der Nachweisbarkeit. Ich kann hier, ohne mich festzulegen, nur sagen, daß wir in den Ganglienextrakten kleinste Mengen einer Substanz vom R_f-Wert des Urocaninsäurecholinesters gefunden haben, die in den Hirnextrakten niemals vorhanden waren. Ob es sich dabei wirklich um Murexin handelt, werden wir noch prüfen. In Hirnextrakten sahen wir eine Substanz vom R_f-Wert des Butyrylcholins und können Holtz u. Schümann[3] insofern bestätigen. Es könnte hier also eine gewisse Spezifität des Urocaninsäurecholinesters vorliegen, die sich auch in den Wirkungen abzeichnet. Die Verbindung wirkt nämlich kaum muscarinähnlich, am Froschrectus, also an den motorischen Endplatten etwa 40mal schwächer als Acetylcholin und am Ganglion etwa gleichstark.

Die Wirkung von Butyrylcholin auf das Halsganglion haben wir leider noch nicht untersuchen können.

Literatur.

[1] Enders, A., u. H. Schmidt: Arzneimittel-Forsch. 4, 331 (1954). — [2] Erspamer, V.: Arzneimittel-Forsch. 2, 253 (1952). — [3] Holtz, P., u. H. I. Schümann: Naturwissenschaften 41, 306 (1954). — [4] Kewitz, H., u. H. Reinert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 222, 311 (1954). — [5] Kewitz, H., u. H. Reinert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 222, 315 (1954). — [6] Kewitz, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 222, 323 (1954).

Diskussion. v. Brücke (Wien): Jede Theorie der ganglionären Nervenübertragung, welche die Rolle des Acetylcholins leugnet, wird sich nicht nur auf negative Befunde stützen können, sondern eine Erklärung für die Rolle des tatsächlich bei der präganglionären Erregung auftretenden Acetylcholins, ferner für die Tatsache, daß in vielen Versuchen gezeigt wurde, daß die Acetylcholinbildung gleichzeitig mit der Erregbarkeit verschwindet, kurz mit allen positiven Befunden, auf die die chemische Theorie der Nervenübertragung sich stützt, abgeben müssen. Solange dies nicht der Fall ist, ist sicher nur die Hälfte der Arbeit geleistet.

Heubner (Heidelberg): Vor kurzem hielt in Heidelberg Herr Nachmannsohn einen Vortrag, der bekanntlich seit Jahren in Opposition steht zu der beinahe zum Dogma gewordenen Lehre von der Rolle des Acetylcholins als Überträger des Nervenreizes von einem Neuron auf das Erfolgsorgan oder auf ein zweites. Unter seinen zahlreichen Argumenten hat mir besonders eines Eindruck gemacht, daß nämlich die Berechnung aus allen bekannten histologischen und physikalisch-chemischen Daten für die angenommene und nach der Theorie erforderliche Diffusionswanderung des Acetylcholins eine Zeit ergibt, die rund 1000mal größer ist als die Dauer der tatsächlichen Reizübertragung. Ich weiß nicht, ob dies Argument stichhaltig zu widerlegen ist.

Holtz (Frankfurt): Sie finden, daß am isoliert durchströmten Ggl. cervicale die Acetylcholinwirkung durch Scopolamin aufgehoben wird, nicht aber die Wirkung der elektrischen präganglionären Reizung. Diese ist also „scopolaminresistent", wie die Darmwirkung der elektrischen Vagusreizung „atropin-resistent" sein soll. Herr Greeff wird nachher über Versuche am Magen-Vagus-Präparat berichten, in denen die „Atropinresistenz" der Vagusreizung sich als eine nur scheinbare erweist, indem bei etwas längerer Einwirkungs*dauer* des Atropins auch der Vagusreiz unwirksam wird, sich also wie Acetylcholin als atropinempfindlich erweist. — Meine Frage deshalb: Haben Sie einmal eine *Dauer*durchströmung des Ggl. cervicale mit scopolaminhaltiger Ringer-Lösung gemacht? Ist auch dann die präganglionäre Reizung immer noch wirksam?

Rummel (Düsseldorf): An der Muskelendplatte konnte Naess zeigen, daß die Adrenalinwirkung von Reizfrequenz, Dosis und Injektionsgeschwindigkeit abhängt. Nur bei niederfrequenter Reizung besitzt Adrenalin in einer ersten Phase decurarisierende Wirkung, bei höherer Reizfrequenz 0,5—1/sec. Dagegen verstärkt es den Curareblock.

Es erhebt sich die Frage, ob nicht auch beim Ganglion ähnliche Abhängigkeiten bestehen und ob z. B. bei einer systematischen Abstufung der Reizfrequenzen sich ein analoges Verhalten zeigt.

Herken (Berlin-Dahlem): Auch im Zentralnervensystem scheint Acetylcholin nicht die universelle Bedeutung als Überträgerstoff zu besitzen, die ursprünglich angenommen wurde. Beim Zustandekommen generalisierter Krämpfe spielt es offensichtlich keine entscheidende Rolle. Eine Differenzierung der Wirkungsweise

der verschiedenen Cholinester wird sehr wahrscheinlich mit der von Hokin und Hokin benutzten Methode möglich sein. Diese Autoren haben gefunden, daß Carbaminoylcholin und ebenso Acetylcholin den Umsatz des Phosphats in den Lipoiden von Pankreas und Gehirn erhöhen. Der Effekt war in der Bauchspeicheldrüse deutlicher nachweisbar als im Gehirn. Hierbei fiel auf, daß sowohl der cholinhaltige wie der nichtcholinhaltige Anteil, in dem sich unter anderem auch die Inosit-Phosphatide befinden, beteiligt sind. Bei diesen Vorgängen dürfte zweifellos den Cholinestern besondere Bedeutung zukommen, die nicht durch die Cholinesterase aufgespalten werden.

Schlußwort. Kewitz: Die Theorie der chemischen Erregungsübertragung an Ganglien lehnen wir nicht ab und beachten natürlich sehr die hervorragenden Arbeiten, die über dieses Gebiet gemacht wurden und auf die sich die Theorie stützt. Nur ist unseres Wissens nicht bewiesen, daß während der Erregung allein Acetylcholin freigesetzt wird, denn der Überträgerstoff wurde quantitativ bisher nur mit biologischen, streng genommen also nicht spezifischen Methoden nachgewiesen. Sicher ist an einer Freisetzung von Acetylcholin nicht zu zweifeln, aber diese Tatsache zwingt nicht zu der Annahme, daß *nur* Acetylcholin die Erregungsübertragung bewirkt und nicht auch andere Wege zur Aufrechterhaltung der Funktion möglich sind. Außerdem ist Acetylcholin in der Tier- und Pflanzenwelt bekanntlich weit verbreitet und die *allgemeine* biologische Bedeutung noch sehr unklar. Die von Prof. Herken erwähnten Befunde zeigen, daß bestimmte Cholinester ganz bestimmte chemische Vorgänge beeinflussen, und zwar mit erheblichen quantitativen Differenzen zwischen den verschiedenen Organen.

Versuche mit Dauerdurchströmung der Ganglien mit scopolaminhaltiger Ringer-Lösung wurden bisher nicht durchgeführt, wir werden das jedoch nachholen. Allerdings hält die Scopolaminwirkung relativ lange an, mitunter länger als 30 min nach einer Einzeldosis, so daß bei der Dauerdurchströmung mit einer erheblichen Kumulation zu rechnen ist und dann wahrscheinlich unspezifische toxische Hemmungen auftreten.

Die Reizfrequenz spielt in unseren Versuchen sicher eine Rolle. Obwohl die mögliche Variation der Frequenz relativ gering ist, wird es sich vielleicht lohnen, die Anregung von Herrn Rummel aufzunehmen.

W.-D. Erdmann, F. Duensing und K.-P. Schaefer (Göttingen): Zentralnervöse Wirkungen von E 605 am Warmblüter.

Die akute Vergiftung mit dem Cholinesterasegift E 605 führt am Warmblüter zu starken parasympathomimetischen Reizerscheinungen, aber auch zu zentralnervösen Symptomen im Sinne motorischer Erregungen und Lähmungen.

Für die *motorischen Erregungen* läßt sich bei der elektroencephalographischen Kontrolle des Vergiftungsverlaufes an Katzen ein hirnelektrisches Substrat erkennen. So entsprechen dem extrapyramidalen Erregungsstadium der E 605-Vergiftung hirnelektrische Krampfstromformationen in bestimmten Teilen des Stammhirns, dem Konvulsionsstadium der E 605-Vergiftung generalisierte encephalographische Krampfstromabläufe. Durch Atropin läßt sich nur das extrapyramidale, nicht

aber das Krampfstadium der E 605-Vergiftung beeinflussen. Die Annahme einer besonderen Acetylcholinempfindlichkeit der entwicklungsgeschichtlich älteren Hirnteile liegt nahe.

Für *motorische Lähmungen* konnte kein elektroencephalographisches Äquivalent gefunden werden. Es wurden aber häufig schwerste hirnelektrische Krampfstromabläufe ohne entsprechende klinische Symptome beobachtet. Da die indirekte Muskelerregbarkeit durch E 605 kaum beeinträchtigt wird, erschien eine Überprüfung der Rückenmarksfunktionen unter E 605 notwendig. Die Versuche wurden an decerebrierten Katzen durchgeführt (z. T. tiefspinale Durchtrennung, z. T. isoliert durchströmte Extremität). Es zeigte sich, daß E 605 die polysynaptischen Reflexe lähmt, den Patellarsehenreflex aber gleichzeitig fördert. Dieser Befund läßt sich nicht ohne Widersprüche als Folge der cholinesterasehemmenden Eigenschaften von E 605 erklären. Dagegen sprechen die Ergebnisse synergistischer (Parpanit, Myanesin) und antagonistischer (Nicotin, Strychnin) Versuche dafür, daß E 605 die Interneuronen des Rückenmarkes lähmt. Die beobachtete Steigerung des Patellarsehnenreflexes mag dabei auf einer Lähmung von Interneuronen, die einen hemmenden Einfluß auf diesen Reflex besitzen, beruhen.

Diskussion. Wirth (Wuppertal-Elberfeld): In eigenen Versuchen fanden wir die Cholinesterase-Aktivität bei Tier und Mensch (E 605-Suicid) stark im Stammhirn und im Cerebellum herabgesetzt, dagegen wenig beeinträchtigt an der Hirnrinde. Schon normalerweise ist die Cholinesterase-Aktivität im Stammhirn und im Kleinhirn viel höher als in der Hirnrinde. Diese Ergebnisse stehen mit den Befunden von Erdmann in Einklang.

Schaefer (Göttingen): Es war von Interesse, die Wirkung von E 605 auf Funktionen zu erfassen, deren Zentren nun vorwiegend im Mittelhirn zu suchen sind. Eine Prüfung der Stell- und Haltereflexe ergab, daß diese noch früher gelähmt werden als die der Atmung und des Rückenmarks. Besonders deutlich war der lähmende Effekt des E 605 bei einseitiger Ausschaltung des Labyrinthes am Meerschweinchen. Eine hierdurch bedingt asymmetrische Körperstellung konnte aufgehoben werden.

Enders (Memmingen): Krämpfe nach E 605 ohne Atropin werden in ihrem EEG-Ablauf durch gleichzeitige Kreislaufschädigung beeinflußt. — EEG-Krampfströme ohne klinisches Äquivalent sind nicht für E 605 spezifisch.

Schlußwort. Erdmann: In unseren Versuchen hatte sich gezeigt, daß blutdrucksenkende Wirkungen von E 605 bei i.p. oder protrahierter i.v. Injektionstechnik *nicht* aufzutreten pflegen.

Die — beiläufig erwähnte — Beobachtung von elektrencephalographischen Krampfstromabläufen ohne klinisches Äquivalent ist natürlich kein Charakteristikum der E 605-Vergiftung. Dieser Befund kann aber kaum Ausdruck einer zentralen „Erschöpfung" sein, da z. B. die durch corticale Applikation von E 605 ausgelösten Krampfanfälle ohne Unterbrechung und ohne Anzeichen einer Erschöpfung über viele Stunden anzuhalten pflegen.

G. Zetler und J. Drescher (Kiel): Über den Einfluß von Pharmaka des vegetativen Nervensystems auf die Empfindlichkeit der Gonaden für gonadotrope Hormone.

Die Gonaden stehen unter der hormonellen Kontrolle des Hypophysenvorderlappens. Das vegetative Nervensystem könnte diese Beziehung beeinflussen, indem es die Produktion oder die Abgabe der gonadotropen Hormone verändert oder indem es die Ansprechbarkeit der Gonaden für die Gonadotropine erhöht oder vermindert. Wir untersuchten dieses letztere Problem: Je 6 männliche Kröten (Bufo bufo L.) im Gewicht von 16—23 g erhielten 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 und 0,9 RE/g Choriongonadotropin; nach 8 Std wurde der Kloakeninhalt auf Spermatozoen untersucht. Die Versuche fanden im Juli statt, an ein und demselben Tage wurde ein Versuch ohne Pharmakon und ein Versuch mit Atropin (1 mg pro Tier) oder Pilocarpin (2 mg pro Tier) unternommen; die Pharmaka wurden 50 min vor der Hormongabe in den Rückenlymphsack injiziert. Auswertung der Versuche nach Litchfield u. Wilcoxon. Die ED_{50} für Choriongonadotropin war normalerweise 0,48 RE/g, nach Atropin 0,78 und nach Pilocarpin 0,34 RE/g; der Unterschied zwischen dem Atropin- und dem Pilocarpinwert ist signifikant. Da jedoch Atropin an der weißen Maus den Ejaculationsreflex hemmt und Pilocarpin verstärkt (Loewe), stellten wir noch folgende Versuche an: Infantile weibliche weiße Mäuse erhielten am 1. Tag 10 RE, am 2. Tag 30 RE und am 3. Tag wieder 10 RE pro Tier Choriongonadotropin subcutan injiziert. Am 9. Tag wurden die Tiere getötet und das Gewicht der Uteri bestimmt. Die Verabreichung der Pharmaka (subcutane Injektion) begann bereits am Tage vor der ersten Hormongabe und endete nach insgesamt 10 Tagen. Täglich erhielten die Mäuse im Abstand von 6 Std eine Injektion; die in dieser Weise in je 40 Einzelgaben aufgeteilten Gesamtdosen betrugen pro Tier: 5 mg Atropin oder 10 mg Pilocarpin oder 400 mg Ephedrin oder 2,5 mg Dihydroergotamin (DHE). Die Ergebnisse dieser Versuche zeigt die nachstehende Tabelle.

Tabelle 1.

Versuchsart	Anzahl der Tiere	Mittelwerte der Uterus-Gewichte in mg (frisch)	$\pm \varepsilon$
Normale Kontrollen	24	5,68	0,637
Chorioman[1]	25	7,98	0,643
Chorioman + Atropin	24	2,05	0,942
Chorioman + Pilocarpin	18	10,12	1,078
Chorioman + Ephedrin	11	11,19	1,003
Primogonyl[2]	18	9,01	0,305
Primogonyl + DHE	18	6,80	0,600

ε = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

[1] W.-Z. der Firma Mack-Illertissen für Choriongonadotropin.

[2] W.-Z. der Firma Schering-Berlin für Choriongonadotropin.

Daß Ephedrin ebenso wie Pilocarpin die Empfindlichkeit der Gonaden erhöhte, andererseits Atropin ebenso wie DHE dieselbe verringerte, könnte darauf beruhen, daß adrenergische und cholinergische Vorgänge für die Reaktionslage der Gonaden von gleichsinniger und gleich großer Bedeutung sind. Ein ähnliches gleichsinniges Zusammenwirken einer cholinergischen und einer adrenergischen Komponente vermuten EVERETT, SAWYER u. MARKEE für die Stimulierung der Gonadotropin-Ausschüttung aus dem Hypophysenvorderlappen nach Östrogeninjektion oder nach dem Kopulationsakt bei Kaninchen; in beiden Fällen — und auch beim normalen Cyclus der Ratte — wirkte Dibenamin ebenso wie Atropin hemmend auf die Ovulation.

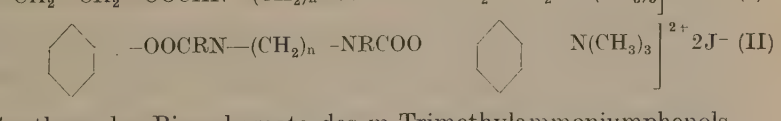
Wir glauben, daß unsere Versuche an Kröten und Mäusen einander ergänzen und daß aus ihnen hervorgeht, daß Pharmaka des vegetativen Nervensystems die Empfindlichkeit der Gonaden für Gonadotropine verstärken oder vermindern können.

Literatur.

EVERETT, J. W., C. H. SAWYER and J. E. MARKEE: Endocrinology (Springfield, Ill.) **44**, 234 (1949). — LITCHFIELD, J. T., and F. WILCOXON: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **96**, 99 (1948). — LOEWE, S.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **63**, 70 (1938).

O. KRAUPP, H. G. SCHWARZACHER und CHR. STUMPF (Wien): **Über die pharmakologischen Eigenschaften einiger Polymethylen-Biscarbaminoyl-m-Trimethylammoniumphenole.**

Die Anregung zur Synthese und pharmakologischen Untersuchung der im folgenden näher beschriebenen Biscarbamate des m-Trimethylammoniumphenols ging von der Fragestellung aus, ob es möglich ist, die starke in vitro ChE-Hemmwirkung der von CHEYMOL und uns untersuchten Biscarbaminoylcholinverbindungen, durch Einführung zweier Benzolkerne anstelle der Äthylengruppen der beiden Cholinreste weiter zu steigern (Formel I und II).



Die Synthese der Biscarbamate des m-Trimethylammoniumphenols wurde von der Österr. Stickstoffwerke A.G. durchgeführt. Syntheseweg und chemische Eigenschaften dieser Verbindungen sind zum Patent angemeldet und werden gesondert veröffentlicht werden.

Die Untersuchungen ergaben zunächst, daß die monoalkylierten Verbindungen, bei denen in Formel II R — H ist, in wäßriger Lösung hydro-

lysiert wurden und daher ihre Wirkung nach wenigen Stunden verloren. Die vollständige Ausalkylierung des Carbaminsäurestickstoffes führte auch in der von uns untersuchten Substanzklasse zu vollständig stabilen Verbindungen. Untersucht wurden in der Reihe der Monoalkylverbindungen die Verbindungen mit n = 4, 6, 8 und bei den methylierten Dialkylverbindungen die Stoffe mit n = 6, 8, 10.

Gegenüber den Biscarbaminoylcholinen zeigten sämtliche untersuchten Substanzen eine Abschwächung der neuromuskulär lähmenden Wirkung am Nerv-Muskelpräparat der Katze, Taube und Ratte auf das zwei- bis vierfache. Hingegen konnte gegenüber den Biscarbaminoylcholinen bei allen Verbindungen das Auftreten sehr starker muscarinartiger Wirkungen am Ganztier beobachtet werden. Hinsichtlich des pharmakologischen Wirkungsbildes ähneln die untersuchten Substanzen mehr dem Prostigmin, mit dem sie daher auch am ehesten verglichen werden können. Ein solcher Vergleich wurde zunächst für die monoalkylierte Verbindung mit n = 8 (BC 18) durchgeführt. BC 18 wirkte an der Speichelsekretion, Blutdruck und Darmmotilität der Katze, Chromodakryorrhoetest der Ratte, Bronchospasmus des Meerschweinchens sowie am isolierten Froschherz, Froschrectus und Blutegelpräparat ziemlich einheitlich 4—8mal stärker als Prostigmin. Ein Vergleich der Wirkungsstärke der untersuchten Verbindungen untereinander und gegenüber Prostigmin wurde an Ratten durch Bestimmung der einzelnen Grenzdosen für Chromodakryorrhoe, neuromuskuläre Lähmung des unnarkotisierten Tieres und der Toxicität, andererseits durch Bestimmung der ChE-Hemmwirkung an Hundeserum und Hundeerythrocyten durchgeführt. Bei allen untersuchten Verbindungen war eine Zunahme der Wirksamkeit aller 5 untersuchten Wirkungsqualitäten mit steigender Anzahl der Glieder der Polymethylenkette festzustellen. Die wirksamen Grenzdosen von Chromodakryorrhoe und neuromuskulärer Lähmung lagen bei den stärkst wirksamen höherkettigen Gliedern um ein bis zwei Zehnerpotenzen niedriger als bei Prostigmin. Bei allen untersuchten Verbindungen war die Hemmwirkung auf die Acetylcholinesterase der Erythrocyten stärker als gegen die Serumesterase ausgeprägt.

Die ChE-Hemmwirkung wurde zunächst nach halbstündiger Inkubation der Substanzen mit Hundeserum bzw. Hundeerythrocyten bestimmt. Im Vergleich zu Prostigmin lagen die 50% hemmenden Konzentrationen der untersuchten Monoalkyl-Biscarbamate bei etwas höheren Werten. Bei den stabilen dialkylierten Biscarbamaten wurden besonders bei der Acetylcholinesterase (Hundeerythrocyten) erheblich niedrigere 50% hemmende Konzentrationen als bei Prostigmin gefunden. Die wirksamste Verbindung BC 48 (mit n = 10) hemmte in einer Konzentration von 10^{-10} M/l die Acetylcholinesterase auf 50%. Darüber hinaus ergaben Untersuchungen, die erst kürzlich gemeinsam mit Frau Dr. Herzfeld

vor allem mit BC 48 durchgeführt wurden, daß eine Verlängerung der Inkubationsdauer der dialkylierten Biscarbamate auf 2 und mehr Stunden zu einer wesentlichen Verstärkung der nach Einkippen des Substrates (Acetylcholin) beobachteten Hemmwirkung führte. Dieser Befund sowie das Ergebnis einer Lineweaver-Burk-Analyse mit BC 48 deuten darauf hin, daß die Einstellung des Enzym-Hemmstoff-Gleichgewichtes zumindest bei den stabilen dialkylierten Biscarbamaten außerordentlich langsam erfolgt. Damit in Übereinstimmung steht die im Vergleich zu Prostigmin bedeutend verlängerte Wirkungsdauer aller untersuchten Verbindungen, wobei der Wirkungseintritt später als bei Prostigmin erfolgte (4—8 min nach der intravenösen Verabreichung).

Zum Schluß möchten wir noch über die Anticurarewirkung der untersuchten Substanzen berichten, die an nicht narkotisierten Ratten mittels eines von uns beschriebenen Klettertestes untersucht wurde. Beobachtet wurde die Wirkung einer i.v. Verabreichung der untersuchten Substanzen auf die Dauer der lähmenden Wirkung einer i.p. Standarddosis von d-TC (150 μg/kg), die entweder gleichzeitig mit den Versuchssubstanzen oder zu verschiedenen Zeitabständen später injiziert wurde. Bei gleichzeitiger Verabreichung von d-TC und den Versuchskörpern erwies sich BC 18 aus der Reihe der instabilen monoalkylierten Biscarbamate gleich wirksam wie Prostigmin. BC 40 und BC 48 ($n = 8$ und $n = 10$) aus der Reihe der stabilen Dialkyl-Biscarbamate als etwa doppelt so wirksam. Ein beträchtlicher Unterschied gegenüber Prostigmin war jedoch bei der Untersuchung der Wirkungsdauer der Anticurarewirkung dieser Verbindungen nachweisbar. Während Prostigmin in einer Dosierung von 12,5 μg/kg nur etwa 1—2 Std nach der Injektion die Zeitdauer der Curarelähmung herabsetzte, dauerte die gleiche Wirkung bei dem instabilen BC 18 bis zu 6 Std, bei dem stabilen BC 40 24 Std und bei dem höheren Homologen BC 48 über mehrere Tage an. Übereinstimmend mit dieser langen Dauer der Anti-Curarewirkung konnten wir nach einmaliger intravenöser Injektion von 50 μg/kg BC 48 an Ratten und Hunden ein Perisistieren des für Anticholinesterasen typischen Muskelfaszikulierens bis zu einer Woche beobachten.

Chr. Stumpf und E. Herzfeld (Wien): Zur Frage der Cholinesterase-Hemmwirkung der Polymethylen-dicarbaminsäure-bischolinester.

In früheren Untersuchungen (Klupp, Kraupp, Stormann, Stumpf, Honetz u. Kobinger[2]) war festgestellt worden, daß Octamethylen-biscarbaminoylcholin (BC 9) in vitro eine relativ starke Hemmwirkung gegenüber beiden Cholinesterasen (ChE) entfaltet, in vivo aber niemals muscarinartige Symptome verursacht. Am Ganztier bewirkt BC 9 eine neuromuskuläre Lähmung vom Depolarisationstyp. In der vorliegenden

Arbeit wurde nun untersucht, ob das Fehlen von muscarinartigen Symptomen durch eine zu geringe in vivo-Hemmung der ChE erklärt werden kann. Die Versuche wurden an Hunden durchgeführt; die Tiere erhielten 50, 150 und 300 μg/kg BC 9 i. v., die Aktivität der ChE des Serums und der Erythrocyten wurde manometrisch an Blutproben bestimmt, die vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der BC 9-Injektion entnommen worden waren. Da BC 9 ein kompetitiver Hemmkörper der ChE ist, mußte bei diesen Bestimmungen der Verdünnungseffekt berücksichtigt werden. Bei einem Teil der Versuche wurde außerdem die eventuelle Veränderung der Blutdruckreaktion der Versuchstiere auf Acetylcholin (0,25 μg/kg), Acetyl-β-Methylcholin (0,125 μg/kg) und Benzoylcholin (150 μg/kg) untersucht.

Ergebnisse.

In allen Versuchen hemmte BC 9 die Aktivität der Acetyl-ChE der Erythrocyten stärker als die der ChE des Serums. Die Aktivität der Acetyl-ChE betrug 5 min nach der BC 9-Applikation bei einer Dosierung von 50 μg/kg a = 0,67—0,69, bei einer Dosierung von 150 μg/kg a 0,00—0,12 und bei einer Dosierung von 300 μg/kg a = 0,00, und erreichte z. B. bei der mittleren Dosierung nach 1—5 Std den Wert von a = 0,50, wobei zwischen der Geschwindigkeit der Aktivitätszunahme und der Empfindlichkeit der Versuchstiere gegenüber BC 9 eine Korrelation bestand. Bei keiner der verwendeten Dosierungen konnten irgendwelche muscarinartige Symptome beobachtet werden. Bei den Versuchen, bei denen gleichzeitig die Blutdruckwirkung von Acetylcholin, Acetyl-β-Methylcholin und Benzoylcholin geprüft wurde, trat auch niemals eine Verstärkung der blutdrucksenkenden Wirkung der genannten Cholinester auf; hingegen war fast immer und weitgehend unabhängig von der BC 9-Dosierung eine Abschwächung dieser Wirkung festzustellen, auch dann, wenn die Acetyl-ChE der Erythrocyten praktisch 100%ig gehemmt war. Die allgemein vertretene Ansicht, daß ChE-Hemmkörper dann zum Auftreten von muscarinartigen Symptomen führen, wenn die Acetyl-ChE auf etwa 20% ihrer normalen Aktivität oder stärker gehemmt ist, konnte somit im vorliegenden Fall nicht bestätigt werden. Eine mögliche Erklärung für dieses abweichende Verhalten wäre das Vorhandensein einer Acetylcholin-antagonistischen, atropinartigen Wirkungskomponente von BC 9, wie sie bereits früher[2] in Erwägung gezogen wurde, um so mehr als an isolierten Organen einwandfrei antimuscarinartige Eigenschaften nachweisbar waren. Daß typische Anticholinesterasen atropinartige Sekundärwirkungen entfalten können, geht z. B. aus einer Arbeit von Bovet-Nitti und Bovet[1] hervor, die als charakteristische Nebenwirkungen von ChE-Hemmkörpern ganglionäre, curarisierende und Acetylcholin-antagonistische Eigenschaften erwähnen.

Eine direkte Abhängigkeit der neuromuskulär lähmenden Wirkung von der ChE-Hemmwirkung halten wir bei BC 9 für unwahrscheinlich, da beispielsweise innerhalb der homologen Reihe der Polymethylen-dicarbaminsäure-bischolinester das stärker neuromuskulär wirksame Hexamethylen-bis-carbaminoylcholin (BC 16, „Imbretil") eine schwächere Hemmwirkung gegenüber den ChE entfaltet.

Literatur.

[1] Bovet-Nitti, F., u. D. Bovet: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **220**, 52 (1953). — [2] Klupp, H., O. Kraupp, H. Stormann, Ch. Stumpf, N. Honetz u. W. Kobinger: Arch. internat. Pharmacodynamie **96**, 161 (1953).

K. Greeff (Frankfurt a. M.): Untersuchungen am isolierten Vagus-Magen-Präparat.

Methodik: An frisch getöteten Ratten und Meerschweinchen wird der Magen mit Oesophagus und den daraufliegenden Vagusnerven herauspräpariert und in einem Tyrodebad bei reichlicher O_2-Versorgung suspendiert. Der Vagus wird möglichst weit von der Eintrittsstelle in den Magen über eine Schnabelelektrode gelegt; um eine Zerrung des Nerven zu vermeiden, muß der freie Oesophagusstumpf ebenfalls an der Elektrode fixiert werden. Zur direkten Reizung führten wir eine Kugelelektrode in das Mageninnere ein und befestigten außen im Bad eine Plattenelektrode. Durch direkte oder indirekte elektrische Reizung lassen sich an einem solchen Präparat über mehrere Stunden gut reproduzierbare Magenkontraktionen auslösen, deren Ausmaß abhängig ist von der angewandten Reizintensität.

Die sowohl bei direkter als auch bei indirekter Reizung auftretende Magenkontraktion ist *atropinempfindlich* — es werden also in beiden Fällen parasympathische Nervenstrukturen gereizt. Durch *Ganglienblocker* wird nur der Vagusreiz unwirksam, während der direkte Reizerfolg erhalten bleibt. Daneben werden von der direkten Reizung offensichtlich auch sympathische Endstrukturen betroffen, deren Hemmungseffekt aber erst nach Atropinisierung erkennbar ist.

Auf Grund der Empfindlichkeit des Vagusreizes gegenüber ganglionär blockierenden Substanzen bietet das Vagus-Magen-Präparat die Möglichkeit, Ganglienblocker an parasympathischen Ganglien auszutesten und hat gegenüber Versuchen in situ (Nickhaut der Katze) den Vorteil, daß die Effekte auswaschbar und relativ schnell reversibel sind. Eine solche Austestung ergab z. B., daß Pendiomid mindestens 5mal weniger wirksam ist als Hexamethonium und Pentamethonium.

Die Kennzeichnung einer Substanz als Ganglienblocker bedeutet, daß sie — wenigstens in bestimmten Dosierungsbereichen — Ganglien blokkiert, ohne andere Strukturen, z. B. die peripheren Nervenendigungen

oder die glatte Muskulatur selbst zu beeinträchtigen. *Buscopan* z. B. wäre in diesem Sinne nicht als Ganglienblocker zu bezeichnen, da die gleiche Dosis, die die Wirkung des Vagusreizes aufhebt, auch die Acetylcholinwirkung und den Effekt der direkten elektrischen Reizung verhindert.

Pendiomid und Hexamethonium heben am Magen-Vagus-Präparat in der gleichen Dosierung, in der sie den Vagusreiz blockieren, auch die Erregungswirkung des Nicotins auf, während z. B. die Acetylcholinerregung unbeeinflußt bleibt. Es ist deshalb in diesem Fall wohl erlaubt, in der Antinicotinwirkung ein Maß für die ganglionär-blockierende Wirkung zu erblicken.

Die Atropinempfindlichkeit des Vagusreizes am isolierten Vagus-Magen-Präparat scheint im Gegensatz zu stehen zu älteren Befunden, wonach in situ die Darmerregung nach Vagusreizung *atropinresistent* ist. Diese Diskrepanz ist möglicherweise dadurch bedingt, daß die Vaguswirkung weniger atropinempfindlich ist als die Wirkung des Acetylcholins. Wir finden auch am Magenpräparat diesen Unterschied: So hebt z. B. Atropin in der Konzentration $1:10^7$ die Acetylcholinwirkung *sofort* auf, während der Vagusreiz *zunächst* noch wirksam ist; dieser wird erst bei etwas längerer Einwirkung des Atropins (15—20 min) unwirksam. Hemmt man am atropinisierten Präparat die Cholinesterase mit Hilfe von Eserin, so werden nacheinander zuerst der Vagusreiz, dann auch Acetylcholin wieder wirksam. Diese Ergebnisse sind vereinbar mit der Vorstellung, daß Acetylcholin auch im Bereich des Magens der parasympathische Überträgerstoff ist.

Für Acetylcholin als Überträgerstoff sprechen ferner Versuche, in denen es gelang, eine humorale Erregungsübertragung direkt nachzuweisen: Suspendiert man im gleichen Versuchsgefäß zusammen mit dem Magen-Vagus-Präparat ein Darmstück, so kommt es bei Vagusreizung zu einer Kontraktion des Darmes; diese wird durch Eserin verstärkt und durch Atropin aufgehoben.

Diskussion. Vogt (Göttingen): Am Froschmagen wurde auch nach stundenlangem Einwirken von Atropin 10^{-7} bis 10^{-6} keine Unterdrückung des Vagusreizes beobachtet. Eine Abschwächung des Vagusreizeffektes am Warmblüterdarm durch Atropin ist verständlich, da zweifellos cholinerge Mechanismen dabei eine Rolle spielen. Es fragt sich aber, ob die Reizung wirklich durch Atropin vollkommen blockiert wird. Ist es möglich, durch Erhöhung der Reizstärke unter Atropin wieder eine motorische Reaktion zu erhalten? Spielen vielleicht artspezifische Unterschiede eine Rolle für die Atropinempfindlichkeit des Darmvagus?

Krause (Hannover): Nach den vorliegenden Unterlagen bestehen in bezug auf die Atropin-Empfindlichkeit des Darmvagus möglicherweise tier-artspezifische Unterschiede. Am Meerschweinchendarm „in situ" hat bereits Straub eine sichere Hemmung des Effektes der Vagusreizung durch Atropin festgestellt. Am Hundedarm besteht dagegen anscheinend eine weitgehende Resistenz. — Die Resultate des Vortragenden geben Anlaß, die am Hundedarm gewonnenen Ergebnisse einer Revision zu unterziehen.

Schlußwort. Greeff zu Vogt: Wir haben festgestellt, daß der Vagusreiz, wenn er durch Atropin blockiert ist, auch bei Erhöhung der Stromstärke oder bei Veränderung der Reizfrequenz nicht mehr wirksam ist.

Zu Krause: Es mag artspezifische Unterschiede geben, aber die Versuche am Meerschweinchen- und Rattenmagen zeigen, daß auch bei diesen beiden Tierarten die Acetylcholinwirkung durch Atropin schneller aufgehoben wird als der Vagusreiz. Demnach scheint doch — wie Dale und Gaddum dies schon früher zu erklären versuchten — Atropin schwerer an den Wirkungsort des „Intrinsic-Acetylcholins" heranzukommen.

W. Oelssner (Leipzig): Die Wirkung des Procains und seiner Spaltprodukte auf den Uterus in vitro und vivo.

Die bereits seit längerer Zeit bekannte, jedoch wenig beachtete Erregungswirkung des Procains auf den Uterus wird nach neueren klinischen Mitteilungen (Willig, Surányi u. Kovácz u. a.) mit gutem Erfolg zur Unterstützung des H.H.L.-Hormons bei Wehenschwäche, Übertragung, Fehl- und Frühgeburten ausgenutzt. Die spärlichen experimentellen Angaben veranlaßten uns zur Bearbeitung dieser Frage.

Wir konnten die Erregungswirkung des Procains am isolierten Uterus von Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen und Hunden bestätigen. Die wirksamen Grenzkonzentrationen liegen etwa bei 10^{-5}, ab 10^{-2} bis 10^{-3} treten nach vorübergehender Erregung Lähmungen auf. Der ruhende Uterus wird durch schwächere Konzentrationen häufig zu rhythmischen Kontraktionen angeregt, stärkere Konzentrationen führen zu Kontrakturen, am spontan schreibenden Uterus mit Frequenzzunahme und Verkürzung der Pendelbewegungen. — Qualitativ ähnlich wirken die Spaltprodukte des Procains Diäthylaminoäthanol (DÄ) und para-Aminobenzoesäure (PAB), quantitativ verhalten sich die mittleren wirksamen Konzentrationen wie 100:26:3,5. — Die Kombination sicher unwirksamer Mengen von Ergotamin, H.H.L.-Hormon und Chinin mit allein ebenfalls unwirksamen Dosen Procain oder DÄ wirkt besonders am Uterus virgineller Meerschweinchen kräftig erregend. Die Reihenfolge der Zugabe dieser Stoffe ist dabei gleichgültig. An besonders empfindlich reagierenden Präparaten führten noch Kombinationen von jeweils $^1/_4$ bis $^1/_2$ der gerade unwirksamen Grenzdosen zu Kontraktionen. — Auch der Uterus der narkotisierten Katze zeigt nach intravenös injizierten Dosen von 0,5—2 mg Procain, 5—10 mg DÄ und etwa 200 mg PAB/kg Kontraktionen und Tonussteigerungen. Hier tritt ebenfalls eine gegenseitige Wirkungssteigerung der Wehenmittel und des Procains bzw. DÄ auf, wenn auch nicht so eindeutig wie am isolierten Organ. Als Paradoxon sei erwähnt, daß in einem von insgesamt 20 Katzenversuchen statt des erwarteten Erregungseffektes ein eindeutiger, spontan reversibler Abfall des Tonus und Verlust der Pendelbewegungen beobachtet wurde. Eine Wirkungsumkehr anderer Pharmaka trat dabei nicht auf.

Nach den bisherigen Erfahrungen ist die uterotonische Wirkung des Procains unabhängig von der Tierart und dem hormonellen bzw. funktionellen Zustand des Organs. Eine Diskussion des Wirkungsmechanismus erscheint uns wegen des allzu hypothetischen Charakters dieser Aussagen für verfrüht.

Literatur.

Surányi u. Kovácz: Zbl. Gynäkol. **37**, 1450, (1952). — Willig: Dtsch. med. Wschr. **47**, 1504 (1951).

Diskussion. Greeff (Frankfurt a. M.): Wir haben schon vor einigen Jahren gezeigt, daß Novocain am Uterus und Darm erregend wirkt. Als Angriffspunkt nahmen wir die glatte Muskulatur selbst an, denn die Erregungswirkung ist weder durch Atropin noch durch Ganglienblocker aufzuheben. Der paradoxe Effekt — die hemmende Wirkung — in situ tritt vielleicht nur in solchen Fällen auf, in denen der Tonus der Uterusmuskulatur ein besonders hoher ist (Abhängigkeit der Wirkungsrichtung von der „Ausgangslage", wie wir das auch am Darm beobachtet haben). Interessant erscheint, daß offenbar ein Unterschied besteht in der Novocainwirkung auf glatte und quergestreifte Muskulatur. Die gleiche Novocain-Konzentration, die z. B. am Rattenzwerchfell eine Lähmung verursacht und es unempfindlich macht gegen direkte elektrische Reizung, wirkt am glattmuskeligen Organ erregend und läßt muskuläre Erregungswirkungen unbeeinflußt.

Brock (Brackwede): Der Nachweis von additiven oder sensibilisierenden Wirkungen am isolierten Meerschweinchen-Uterus ist schwierig und unsicher, wenn die Initial-Kontraktion als Test gewählt wird. Die Überwindung der störenden „Eigensensibilisierung" ist dagegen möglich, wenn man die Methode von Koll u. Kaller anwendet.

Schlußwort. Oelssner: Die Befunde von Greeff wurden von uns bestätigt. Der Einwand einer unspezifischen Wirkung des Procains erscheint nicht gerechtfertigt, da die klinischen Erfahrungen ebenfalls für eine Verstärkung der Wehenmittel durch Procain sprechen (Pelottenmethode an der gebärenden Frau).

G. Engelhardt (Göttingen): Serumanaphylaktische Reaktionen am nervenfreien Hühneramnion.

Im Bereich der Anaphylaxie- und Allergieforschung ist in den letzten 20 Jahren das Problem der Beteiligung des Nervensystems in zunehmendem Maße diskutiert worden, ohne daß es gelungen ist, wirklich direkte Beweise für die neuralpathologischen Vorstellungen zu erbringen, die besagen, daß die Bildung und die Bindung von Antikörpern an die Anwesenheit nervöser Elemente geknüpft ist.

Für eine experimentelle Überprüfung der Frage der Bedeutung des Nervensystems im anaphylaktischen Geschehen mußte das Hühneramnion als Versuchsobjekt besonders geeignet sein, da es physiologischerweise frei von nervalen Elementen ist. Auch mit modernen histologischen Methoden konnten bisher in diesem eine rhythmische Tätigkeit zeigenden glattmuskeligen Organ keine nervösen Strukturen nachgewiesen werden.

Unsere Versuche am Hühneramnion wurden in dreifacher Hinsicht durchgeführt: mit dem Ziel einer aktiven und passiven Sensibilisierung des Amnions in vivo sowie einer passiven Sensibilisierung des überlebenden isolierten Organes in vitro. Bei diesen Versuchen sollte das isolierte Amnion als Testobjekt für eine der SCHULTZ-DALEschen entsprechende Reaktion Verwendung finden.

Zur Erzielung einer Sensibilisierung des Amnions beschritten wir folgende Wege: Bei der aktiven Sensibilisierung erfolgte am 3. Bebrütungstage die Injektion des Antigens (Hammelserum) unter die Schalenhaut direkt ins Eiklar. Nach 8 bis 11 Tagen Inkubationszeit wurde die Testung auf den Erfolg der Sensibilisierung am isolierten Organ mit objektiver Registrierung wie bei einem Darmstreifenpräparat vorgenommen.

Zur passiven Sensibilisierung wurde am 3. Bebrütungstage ein Hühneranti-Hammelserum in gleicher Weise unter die Schalenhaut injiziert und der Erfolg der Antikörperverabfolgung am isolierten Organ nach weiteren 6 bis 10 Bebrütungstagen überprüft.

Bei diesen in vivo-Versuchen am lebenden Ei mußte kritisch beachtet werden, daß die Gebrauchsfähigkeit des Amnions als Präparat nur während der Zeitspanne vom 6. bis zum 13. Bebrütungstage gegeben ist, von der Erstverabfolgung des Antigens am 3. Bebrütungstage bis zur Präparation also im Höchstfalle nur 10 Tage zur Verfügung standen —, daß aber andererseits für die Bildung von Antikörpern und auch für ihre Bindung an das Gewebe der Zeitfaktor eine erhebliche Rolle spielt.

Auch die passive Sensibilisierung in vitro, bei der das Präparat dem antikörperhaltigen Serum vor der Zugabe des Antigens eine Zeitlang ausgesetzt werden mußte, bot hinsichtlich der zeitlichen Versuchsbedingungen gewisse Schwierigkeiten, da das Präparat nur begrenzte Zeit überlebend und gut reaktionsfähig gehalten werden kann, die Bindung der Antikörper an das Amniongewebe in dem in vitro-Versuch aber ebenfalls eine gewisse Zeit benötigt.

Vorgelegte Versuchsbeispiele machen den Gang des Nachweises einer organanaphylaktischen Reaktion am Amnion deutlich. Zur Sicherung der Spezifität der bei der Testung erzielten Reaktionen wurden Kontrollversuche mit unspezifischen Seren durchgeführt. Ein weiterer Beweis für die Spezifität der beobachteten Reaktionen wurde durch wiederholte Zugabe des Antigens über den positiven Desensibilisierungstest bei weiterbestehender, unveränderter Empfindlichkeit gegenüber Histamin erbracht.

35% der Amnien von Keimlingen, die in den Versuch einer aktiven Sensibilisierung genommen worden waren, reagierten bei der Testung mit einem deutlichen anaphylaktischen Organschock, der sich in einer mehr oder minder kräftigen Erregung der Präparate bei dem Kontakt mit dem Antigen äußerte.

Der Versuch der passiven Sensibilisierung von Amnien in vivo gelang an über 60% der insgesamt hierfür zur Testung zur Verfügung stehenden Präparate.

Bei dem Versuch einer passiven Sensibilisierung von überlebenden Amnien in vitro gelang es, unter 10 Präparaten einen einzigen deutlich positiven Versuch zu erzielen.

Die Versuchsergebnisse erlauben folgende Schlüsse:

Zur Auslösung einer Antikörperbildung scheint die Anwesenheit funktionstüchtigen Nervengewebes nicht erforderlich. Zur Bindung bereits vorhandener Antikörper kann die Gegenwart nervöser Strukturen nicht unbedingte Voraussetzung sein. Der anaphylaktische Organschock ist auslösbar ohne das Vorhandensein nervaler Elemente.

Eine primäre Bedeutung im anaphylaktischen Geschehen kommt dem Nervensystem entgegen den neuralpathologischen Vorstellungen somit wohl nicht zu!

M. Bühler (Tübingen): Papierchromatographische Untersuchungen eines Extraktes aus Froschhaut.

Wäßrige oder alkoholische Extrakte aus Froschhaut zeigen bei der pharmakologischen Untersuchung eine Reihe von Wirkungen, die auch von 5-Hydroxytryptamin (5-HT) bekannt sind: Kontraktion von Darm und Uterus bei Meerschweinchen und Ratte (wirksame Grenzkonzentration von noch verunreinigten Präparaten 10^{-6}). Blutdrucksenkung bei Katze und Kaninchen; Vasoconstriction am Gefäßpräparat. Bronchospasmus beim Meerschweinchen. Am isolierten Froschherzen und Meerschweinchenvorhof geringfügiger positiv inotroper Effekt.

Die Vermutung lag daher nahe, daß es sich bei dem Agens um 5-HT handelt, zumal nach Erspamer sich dieser Stoff in der Haut von Amphibien findet.

Beim Versuch, auf papierchromatographischem Wege den Wirkstoff zu identifizieren, wobei als Vergleichspräparat ein 5-HT enthaltender Acetonextrakt aus Rindermilz diente, zeigte sich überraschenderweise ein anderes Verhalten.

Die beiden für 5-HT typischen Fluorescenzreaktionen mittels Kaliumdichromat-Formalin und Ninhydrin fallen beim Froschhautextrakt (FHE) negativ aus. Außerdem besitzt der FHE-Wirkstoff, dessen Standort im Papierchromatogramm durch den biologischen Test am Meerschweinchendarm ermittelt wurde, einen andern RF-Wert als 5-HT: 0,25 gegenüber 0,38—0,4 beim 5-HT.

Dazu tritt auch noch ein biologischer Unterschied: Die dem 5-HT zukommende Tachyphylaxie kann beim FHE-Stoff nicht beobachtet werden. Somit ist der Wirkstoff des FHE nicht identisch mit 5-HT.

Diskussion. Lembeck (Graz): Es wird darauf hingewiesen, daß Oxytryptamin in Erspamers sowie in eigenen Untersuchungen an der Froschhaut einwandfrei nachgewiesen werden konnte. Daneben konnten allerdings weitere biologisch wirksame Substanzen gefunden werden.

Fragen: 1. ob auch Lösungsmittelgemische verwendet wurden, in denen Oxytryptamin einen höheren R_f-Wert aufweist; 2. ob Bufotenin und Bufotenidin in den Untersuchungen berücksichtigt wurden.

Schlußwort. Bühler: Außer Butanol-Essigsäure wurde Methanol-Ammoniak als Lösungsmittelgemisch angewendet. Für Oxytryptamin wurde dabei ein R_f-Wert um 0,73 gefunden, während sich der Froschhautextrakt-Wirkstoff zwischen R_f 0,4 und 0,65 erstreckte. Bufotenin und Bufotenidin sind auszuschließen, da sie nach der Literatur auch die Kaliumdichromat-Formalin-Reaktion zeigen.

R. Deininger (München): Papierchromatographischer Nachweis der Methylierung von Nor-Evipan zu Evipan.

Arbeitstechnik: 20 cm³ *Harn* werden HCl-sauer — p_{H_3} mit gleichem Volumen Äther ausgeschüttelt. Der mit Natriumsulfat getrocknete Ätherextrakt wird durch eine Säule (Fischer u. Chalupa) mit aktiver Kohle 0,3 g und Aluminiumoxyd (nach Brockmann) 0,3 g geschickt. Die Säule wird über ein Receptionsgefäß — das zur Verdunstung des Äthers über einem Wasserbad befestigt ist — an ein Vakuum geschlossen. Der Trockenrückstand im Receptionsgefäß wird mit Alkohol 0,1 cm³ aufgenommen und auf den Startpunkt des Papiers gebracht.

5 cm³ *Blut* werden mit $MgCl_2$ und Pufferlösung (Fischer u. Chalupa) angesäuert und weiterbehandelt wie Harn.

Am Startfleck kann zur *Vororientierung* für forensiche Zwecke die Zwickerreaktion mit Kobalt ausgeführt werden. Eine 2%ige alkohol. abs. Kobaltacetatlösung wird durch das Loch ($\varnothing$ = 1,2 cm) einer Schablone gesprüht. Das getrocknete Papier wird dann über Pyrrolidindampf gehalten. Eine nachfolgende papierchromatographische Trennung s. u. wird durch diese Vororientierung nicht gestört.

Zum *Nachweis* der Barbitursäuren nach ihrer Entwicklung s. u. wird das gut getrocknete Papier in eine 1%ige wäßrige *Merkuronitrat*lösung (gesättigt und filtriert) 1 min lang getaucht und nachfolgend 3mal ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$ und 1 min) in jeweils frischem aqu. dest. gewaschen. Die Barbitursäuren zeigen nach dem Trocknen mit warmem Föhn grauschwarze Flecken. Mit diesem Reagens können bis zu 5—10 γ Nor-Barbitursäure und 10—50 γ N-methylierte Barbitursäure nachgewiesen werden. Für die Methylierungsversuche (Nor-Evipan — Evipan) s. u. wird als Farbreagens *Kaliumpermanganat* nach Algeri u. Walker verwendet, da dieses Reagens für diese Barbitursäuren besonders empfindlich ist.

Lösungsmittelkombinationen von Butanol oder Isopropanol mit Ammoniak als wäßrige Phase werden mit verschiedenen Konzentrationen

für die aufsteigende, eindimensionale papierchromatographische *Trennung* durchuntersucht. Die Trennschärfe wird wesentlich verbessert, wenn zu den Kombinationen als 3. Phase Chloroform zugegeben wird. Die besten Kombinationen für den Nachweis aller Barbitursäuren sind folgende:

A) *Butanol*:*Chloroform*:*Ammoniak* konz. = 63:24:13 (Vol-%)

B) *Isopropanol*:*Chloroform*:*Ammoniak* konz. = 45:45:10 (Vol-%)

R_f-Werte der Kombination B: Veronal 0,37, Luminal 0,44, Dial 0,48, Numal 0,53, Phanodorm 0,56, Noctal 0,6, Pernocton 0,7, N-methyl-Veronal 0,75, Prominal 0,79, Evipan 0,81, Eunarkon 0,86 und Narkonumal 0,9.

Die Trennung der N-methyl- von den Nor-Barbitursäuren gelingt am besten mit Zusammensetzung C:

C) *Isopropanol*:*Chloroform*:*Ammoniak* konz. = 50:20:30 (Vol-%)

Versuchsergebnisse: *Evipan* (100 γ/g) werden je 10 Mäusen s.c. injiziert. Die Tiere werden 30, 60 und 120 min nach der Injektion dekapitiert und das Blut etwa 0,5 cm^3 pro Maus weiter behandelt wie oben angegeben. Es zeigt sich, daß die Evipankonzentration im Blut in den ersten 60 min sehr steil abfällt, um dann bis zur 2. Std langsam abzunehmen. Neben Evipan läßt sich im Blut noch seine Nor-Verbindung, das Nor-Evipan nachweisen. Die Blutkonzentration von Nor-Evipan ist nach 30 min etwa $^1/_{10}$ der Evipankonzentration. Die Konzentration des Nor-Evipans nimmt jedoch im Gegensatz zu der des Evipans nur langsam ab, so daß 120 min nach der Injektion der Anteil beider Barbitursäuren im Blute fast gleich ist. Wird an Stelle von Evipan nun *Nor-Evipan* (200 γ/g) injiziert, dann findet sich in allen Blutproben neben Nor-Evipan auch die N-methylierte Verbindung, das Evipan. Wenn auch bisher noch keine genauen quantitativen Untersuchungen durchgeführt werden konnten, so zeigen die Versuche nach Applikation von Nor-Evipan, daß die Evipan- und Nor-Evipankonzentration im Blute während der 120 min ziemlich konstant bleibt und während dieses Zeitraumes nur gering abnimmt. Versuche über quantitative Bestimmung der N-methylierten und Nor-Verbindungen sind im Gange.

Wie wir (1954) in eigenen Versuchen gezeigt haben, kann die Narkosedauer gewisser Barbitursäuren insbesondere der Nor-Barbitursäuren durch Methyldonatoren verlängert werden. Wir stellten damals die Hypothese auf, daß dieser Effekt durch Aufmethylierung der Nor-Barbitursäuren einerseits und Verzögerung der Demethylierung der N-methylierten Barbitursäuren andererseits erklärt werden kann. Die jetzigen Blutanalysen zeigen am Beispiel des Nor-Evipans, daß eine Methylierung in vivo tatsächlich stattfindet.

Literatur.

Algeri, E. J., and J. T. Walker: Amer. J. Clin. Path. **22**, 37 (1952). — Deininger, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 193 (1954). — Fischer, R., u. C. Chalupa: Mikrochemie u. Mikrochim. Acta (Wien) **34**, 257 (1949).

Diskussion. RICHARDS (Chicago): Kommt die Methylierung des Nor-Evipans auch bei der Verabreichung „therapeutischer" Dosen vor? Wir haben manchmal den Eindruck, daß gewisse Entgiftungsprodukte, die nach hohen Dosen auftreten, durch zusätzliche Notfallstätigkeit des Stoffwechsels entstehen, die sonst nicht oder nur in ganz geringem Umfange vorkommen. Aus diesem Grunde ist die Kenntnis der Größe der verabreichten Menge und die Speciesverschiedenheit wichtig.

Schlußwort. DEININGER: Die Methylierung des Nor-Evipans kommt bereits bei der Verabreichung von eben noch narkotisch wirkenden Dosen (200 γ/g) subcutan bei Mäusen zustande. Andere Tierarten wurden für diese Versuche noch nicht verwendet.

F. LEMBECK und W. KLEMENTSCHITZ (Graz): Papierchromatographische Untersuchungen über die Reaktionsprodukte des Oxytryptamins mit Formaldehyd.

Enterochromaffine Zellen und Carcinoide zeigen eine Reihe von Farbreaktionen, die auf Oxytryptamin zutreffen (Diazo R., Indophenol R., GIBBSsche R., Argentaffinität u. a.). Als weitere histologische Kennzeichen gelten die *Gelbfärbung* und die *Gelbfluorescenz* nach Formolfixierung, ferner die *Chromierbarkeit* bei gleichzeitiger Einwirkung von Bichromat. Formaldehyd hat hierbei zweierlei Wirkungen: Einerseits fixiert es Oxytryptamin unverändert in Form der basalen Granula (RATZENHOFER u. LEMBECK, Zt. f. Krebsforsch. **60**, 169 (1954)). Andererseits wurde eine unmittelbare Reaktion des Formaldehyds mit Oxytryptamin vermutet.

Hierzu wurden Untersuchungen in vitro unternommen, wobei die entstehenden Reaktionsprodukte papierchromatographiert wurden. Dabei zeigte sich, daß aus Oxytryptamin bei Formaldehydüberschuß im Alkalischen zunächst mehrere gelbe, stark gelbfluoreszierende Produkte entstehen, die papierchromatographisch in Isopropanol:Wasser (80:20) getrennt werden können; sie gehen langsam in einen gelben, nicht fluorescierenden Niederschlag über, der im Sauren löslich ist. Diese gelben Substanzen entstehen nicht mit einem 1:1 mol. Formaldehydäquivalent, nicht im Sauren und auch nicht aus Tryptamin oder Tribenzyl-Oxytryptamin. Zusatz von Bichromat in hoher Verdünnung oder Sauerstoffeinleitung beschleunigt die Reaktionsfolge.

Der Farbverlust der gelben Substanzen bei Reduktion (H_2SO_3 oder Zn-Staub in Eisessig) mit Farbwiederkehr bei nachherigem Sauerstoffdurchleiten läßt annehmen, daß es sich dabei um Chinone handelt.

Die Gelbfärbung der Zellgranula und ihre Fluorescenz lassen sich demnach auf die Einwirkung von Formaldehyd auf Oxytryptamin zurückführen. Die Chromierung wird als Beschleunigung dieser Oxytryptamin-Formaldehyd-Reaktionen durch Oxydation mittels Bichromat angesehen.

E. Gerlach (Heidelberg): Papierchromatographische Trennungsmethoden für die Phosphorsäureester der Niere.

Amerikanische Autoren (Mudge u. Taggart; Taggart u. Forster) konnten durch Verwendung von Dinitrophenol zeigen, daß auch in der Niere eine enge Verknüpfung besteht zwischen den funktionellen Leistungen und dem Energie-Stoffwechsel von Phosphorsäure-Estern. Zur weiteren Klärung dieser Zusammenhänge erscheint es wichtig, die normale Verteilung von energiereichen und anderen Phosphorverbindungen im Nierengewebe zu kennen. Da sich hierüber in der Literatur nur wenige und unvollständige Angaben finden, wurde eine neue Methode zur Erfassung der Mehrzahl säurelöslicher Phosphorverbindungen im Nierengewebe ausgearbeitet. Durch Kombination einer Vorfraktionierung des trichloressigsauren Extraktes mit papierchromatographischer Aufarbeitung (Weiterentwicklung der von Bandurski u. Axelrod, Eggleston u. Hems, Fleckenstein und Mitarbeitern angegebenen Methodik) gelingt die gleichzeitige exakte Erfassung von etwa 20 verschiedenen phosphorhaltigen Verbindungen, die in der Niere in nennenswerter Menge vorkommen.

Ausgangsmaterial für unsere Untersuchungen ist eine halbe Rattenniere (etwa 200—500 mg) mit einem Gehalt an säurelöslichem Phosphor von etwa 200 γ. Durch eine fraktionierte Barium-Alkohol-Fällung (nach Le Page, modifiziert) wird der trichloressigsaure Nierenextrakt in drei Fraktionen unterteilt. Die Fraktion A enthält die P-Verbindungen, die mit Barium schwerlösliche Salze bilden; in der Fraktion B finden sich leichtlösliche, mit Alkohol fällbare Barium-P-Ester; die Fraktion C umfaßt die mit Barium und Alkohol nicht präzipitierbaren P-Verbindungen.

Die ein- und zweidimensionale Papierchromatographie der Fraktionen A und B mit verschiedenen neuentwickelten Lösungsmitteln nach der „auf- und absteigenden" Methode bei bestimmten Temperaturen führt zur sauberen Auftrennung aller Bestandteile dieser Fraktionen.

An die in bekannter Weise nach dem Photoprint-Verfahren (Markham u. Smith) durchgeführte Lokalisation von Nucleotiden wird die Entwicklung der Chromatogramme angeschlossen. Molybdat-Reagens (Hanes u. Isherwood) dient zur Sichtbarmachung aller phosphorhaltigen Areale; andere aus der Zucker- und Aminosäurechromatographie bekannte Reagenzien werden zur Identifizierung von phosphorylierten Zuckern und schwefelhaltigen Verbindungen benutzt. Die quantitative Auswertung erfolgt durch elektrocolorimetrische Bestimmung des Phosphorgehaltes der ausgeschnittenen Areale nach feuchter Veraschung.

Ordnet man die erfaßten Verbindungen (Mittelwerte aus 20 Versuchen) nach ihrem Gehalt an Phosphor bezogen auf den säurelöslichen Gesamtphosphor, so ergibt sich, daß Orthophosphat die größte Fraktion unter den übrigen Nieren-P-Estern ist. Es folgt eine noch nicht identifizierte

Verbindung, die kein Nucleotid ist und auch kein Zucker-P-Ester zu sein scheint. AMP und Co-Zymase werden in größeren Mengen gefunden als Kreatinphosphat, ADP und ATP. Acht weitere Nucleotide und verschiedene phosphorylierte Zucker kommen nur in geringeren Mengen vor. Interessant erscheinen drei verschiedene Verbindungen, die Schwefel und Phosphor enthalten. Bindungsart des Phosphors und die molekulare Struktur dieser Substanzen sind jedoch noch ungeklärt.

Es ist nach unseren orientierenden Untersuchungen sicher, daß Stoffe wie Salyrgan oder Dinitrophenol die normale Verteilung der Phosphorverbindungen im Nierengewebe in qualitativer und quantitativer Weise entscheidend verändern können.

Eine ausführliche Darstellung der Methode wird von E. Gerlach u. E. Weber im Arch. exper. Path. u. Pharmakol. gegeben.

Literatur.

Bandurski, R. S., and B. Axelrod: J. of Biol. Chem. **193**, 405 (1951). — Berenblum, I., and E. Chain: Biochemic. J. **32**, 295 (1938). — Eggleston, L. V., and R. Hems: Biochemic. J. **52**, 156 (1952). — Fleckenstein, A., und E. Gerlach: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 531 (1953). — Fleckenstein, A., u. J. Janke: Pflügers Arch. **258**, 177 (1953). — Gerlach, E., und E. Weber: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — Hanes, C. S., and F. A. Isherwood: Nature (Lond.) **164**, 1107 (1949). — Le Page, G. A., in: Manometric Techniques. Minneapolis. Ed. by Umbreit, Burris and Stauffer. — Markham, R., and J. D. Smith: Biochemic. J. **45**, 294 (1949). — Mudge, G. H., and J. V. Taggart: Amer. J. Physiol. **161**, 173 (1950). — Taggart, J. V., and R. P. Forster: Amer. J. Physiol. **161**, 167 (1950).

D. Maibauer (Berlin): **Mikrobiologischer Nachweis von Inosit und Cholin im Gewebestoffwechsel[1].**

Ausgangspunkt unserer Untersuchungen war die Beobachtung, daß m-Inosit die antikonvulsive Wirkung des β-Hexachlorcyclohexans vermindert. Es handelt sich dabei nicht um einen kompetitiven Antagonismus, denn β-Hexachlorcyclohexan entspricht in seiner Struktur dem Scyllit. Über die biologische Bedeutung des Inosits für den Warmblüterorganismus ist bisher wenig bekannt.

Wichtig waren vor allem die Untersuchungen von Folch, dem die Isolierung eines Di-Phosphorsäure-Esters des Inosits aus der Cephalinfraktion der Hirnlipoide gelang.

Inosit wird z. Z. am besten mit Hilfe mikrobiologischer Methoden bestimmt. Wenn Inosit im intermediären Stoffwechsel mit genügender Geschwindigkeit umgesetzt wird, müßte er sich mit Hilfe mikrobiologischer Analysen der Stoffwechselprodukte von Gewebeschnitten nachweisen lassen.

[1] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Wenn in dem für den betreffenden Mikroorganismus angesetzten „Minimalmedium" alle benötigten Stoffe in ausreichender Konzentration vorhanden sind, so ist innerhalb gewisser Grenzen das Wachstum eine Funktion der zugesetzten Menge eines spezifischen Wirkstoffes. Man kann mit dieser Methodik alle Stoffe bestimmen, die Wuchsstoffe für Mikroorganismen sind. Der Nachweis ist streng spezifisch: Woolley hat nachgewiesen, daß bei der Inositbestimmung nur der m-Inosit von den benutzten Mikroorganismen verwendet werden kann. Inosit wird am besten mit der Hefe Saccharomyzes carlsbergensis bestimmt. Die Wachstumsmessung erfolgt nephelometrisch.

Wir haben zunächst geprüft, welche Gewebe imstande sind, im Stoffwechselversuch Inosit freizusetzen. Zu diesem Zweck haben wir Gewebeschnitte in gepufferter physiologischer Salzlösung suspendiert und in der Warburg-Apparatur 90—120 min inkubiert. Die Schnitte wurden dann getrocknet und gewogen, in der Lösung der nunmehr darin enthaltene Inosit bestimmt. Es ergab sich, daß nur Nervengewebe Inosit freisetzt, etwa 3 γ/mg Trockengewicht. Leber und Pankreas, die sehr inositreiche Organe sind, tun das nicht.

Bei der Untersuchung des zeitlichen Verlaufes der Freisetzung wurde festgestellt, daß dieser Prozeß kontinuierlich verläuft, nach 120 min beendet ist und unabhängig von aeroben oder anaeroben Versuchsbedingungen ist.

Es ist nicht sehr wahrscheinlich, daß es sich hier um eine Schädigung des Nervengewebes handelt, die sich in der Inosit-Freisetzung äußert. Normaler menschlicher Liquor enthält etwa 3mal mehr Inosit in der Volumeneinheit als das Serum.

Neben diesem frei verfügbaren Inosit ist im Nervengewebe eine weitere Menge Inosit enthalten, die erst nach saurer Hydrolyse des Gewebes nachweisbar ist. Es findet sich etwa die gleiche Menge, etwa 3 γ/mg Trockengewicht des Hydrolysates.

Aus diesen Befunden läßt sich schließen, daß Inosit im Nervengewebe in 2 Fraktionen vorkommt:

1. fest gebunden, höchstwahrscheinlich in den von Folch beschriebenen Lipoiden,

2. leicht verfügbar, vielleicht durch die Gewebsenzyme in die mikrobiologisch aktive Form übergeführt.

Aus methodischen Gründen hat uns das Cholin in diesem Zusammenhang ebenfalls interessiert. Cholin ist auch in den Lipoiden enthalten, eine Freisetzung daher durchaus möglich.

Der Cholinnachweis wird mit Hilfe einer cholinbedürftigen Mutante von Neurospora crassa geführt. Die Methode entspricht dem Inositnachweis mit Hefe, das Wachstum wird hier durch Wägung des Trockenmyzels bestimmt.

Nach Angabe amerikanischer Autoren hemmt das Cholin das Hefewachstum und stört dadurch die Inositbestimmung. Die freigesetzten Mengen Cholin sind geringer als die Inositmengen, etwa 0,2—0,5 γ/mg Trockengewicht beim Gehirn, bei der Leber etwa 1 γ/mg Trockengewicht. Diese Mengen stören den Inositnachweis nicht.

Unter den beschriebenen Bedingungen verhalten sich die Mengen von freiem Inosit: freiem Cholin: freiem Acetylcholin wie 100:10:1.

Die Kenntnis des Stoffwechsels von Inosit und Cholin, die in den Lipoiden enthalten sind, ist deshalb von Interesse, weil es Hokin gelungen ist, nachzuweisen, daß der Umsatz von P^{32} in den Lipoiden bei Gegenwart von Acetylcholin erheblich gesteigert wird. Dies gilt sowohl für die cholinhaltigen als auch für die cholinfreien Verbindungen. Hiermit ist das erste Mal nachgewiesen, daß Acetylcholin auch eine besondere Stoffwechselwirkung besitzt, die sich auf den Umsatz des Phosphors in den Lipoiden erstreckt. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß die Lipoide der Zellen als spezifische Phosphatacceptoren bei Erregungsvorgängen dienen können.

J. Hamacher (Köln): Synchronisierte Oszillographen-Schirmbild-Photographie einmaliger Vorgänge mit der Kleinbildkamera.

Mit 2 Textabbildungen.

Zur Registrierung nichtperiodischer oder einmaliger Vorgänge an Elektronenstrahloszillographen bedient man sich normalerweise der kontinuierlichen Aufzeichnung des nur vom Meßvorgang abgelenkten Lichtpunktes auf ablaufendem Film. Diesem Verfahren ist eine Grenze gesetzt durch die höchstmögliche, gleichmäßige Filmablaufgeschwindigkeit und die Empfindlichkeit der Filmemulsion. Der Materialverbrauch ist bei schnellen Vorgängen beträchtlich und die Registrierung an Spezialkameras, Photokymographien mit Rundoptik sowie die Weiterverarbeitung an entsprechende Photo-Laboreinrichtungen gebunden.

Wenn jedoch das zeitliche Auftreten des zu beobachtenden Vorganges bekannt oder vorher bestimmbar ist, lassen sich auch einmalige Vorgänge genau wie stehende Oszillogramme einfach mit einer normalen Kleinbildkamera aufnehmen, sofern man sich des angegebenen Verfahrens bedient.

Anstelle des mechanischen Filmablaufs zur Auflösung des Vorganges nach der Zeit wird jetzt außer zur Beobachtung auch bei der Aufnahme das Kippgerät des Oszillographen zur einmaligen Zeitablenkung benutzt. Bedingung ist lediglich, daß die Öffnungszeit des Kameraverschlusses, der Beginn der Zeitablenkung und die Auslösung des zu beobachtenden Vorganges zeitlich aufeinander abgestimmt werden. Die Synchronisation übernimmt der bei allen modernen Kameras vorgesehene Blitzlicht-Synchronschalter.

Man justiert die Kamera mittels Vorsatzlinse oder Auszugsverlängerung über Mattscheibe oder Naheinstellgerät zum Schirmbild des Oszillo-

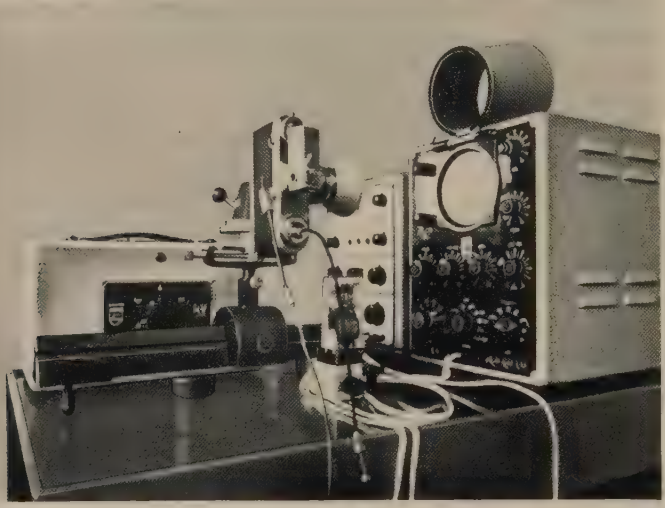


Abb. 1. Synchronisierte Oszillographen-Schirmbildaufnahme mit der Kleinbildkamera. Elektronenstrahl-Oszillograph und Kleinbildkamera mit Naheinstellgerät. Vorn: Kabel vom Blitzlichtsynchronschalter der Kamera über Relais zum Kippgerät im Oszillographen. Hinten: Elektronischer Schalter zum Sichtbarmachen zweier Vorgänge; Nachbeschleunigungsgerät zur Helligkeitssteigerung bei sehr schnellen Vorgängen.

graphen. Der Synchronkontakt wird direkt oder über ein Relais mit den Buchsen des Oszillographen verbunden, die zur Synchronisation der Zeitablenkung vorgesehen sind. Weiter kann hierüber der zu untersuchende Vorgang ausgelöst werden.

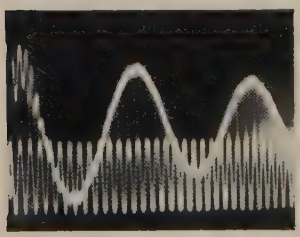


Abb. 2. Synchronisierte Oszillographen-Schirmbildaufnahme mit der Kleinbildkamera. Registrierung der Eigenschwingungen eines elektr. Transmissionsmanometers (gekoppeltes System). Oben: Vorgang. Unten: Zeitmarkierung.

Man kann sich dieses Verfahrens immer dann bedienen, wenn die Aufnahme einer ganzen Kipp-Periode ausreicht. Die Registriergeschwindigkeit wird nur noch vom Kippgerät und der Empfindlichkeit der Filmemulsion bestimmt. Das Verfahren macht von Spezialapparaturen und Einrichtungen unabhängig und gestattet eine erhebliche Ersparnis an lichtempfindlichem Material. Die einzelne Aufnahme erfordert jeweils nur 40 mm Film. Bei fast allen Aufnahmen kann eine Abdunklung des Arbeitsraumes unterbleiben, da die Belichtungszeit der Dauer der Kipp-Periode exakt angepaßt werden kann.

Anwendungsbeispiel: Aufzeichnung von Aktionspotentialen etc.

J. Hamacher und W. Vater (Köln): Tongesteuerte Manschettendruckschreibung zur unblutigen Blutdruckmessung als neues Registrierprinzip am EKG-Direktschreiber.

Mit 3 Textabbildungen.

Die Blutdruckmessung entspricht im Prinzip dem üblichen auskultatorischen Verfahren: „Aufpumpen und Ablassen des Manschettendrucks, Abhören der Korotkoffschen Töne über der Cubitalarterie."

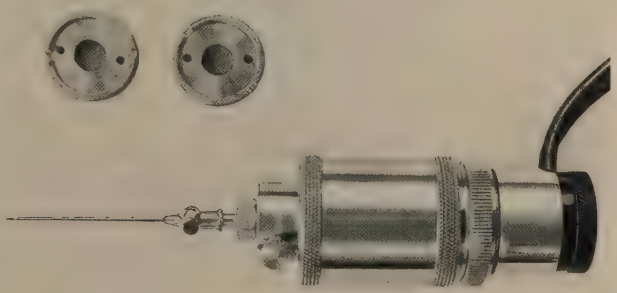


Abb. 1. Elektr. Transmissionsmanometer nach Hamacher und Vater mit aufgesetzter Kanüle zur direkten Punktion.

Die Registrierung erfolgt elektrisch am 1-Kanal-EKG-Direktschreiber bei einem Papierverbrauch von 1 cm für die Einzelmessung bzw. 3,60 m pro Stunde für die laufende Blutdrucküberwachung.

Abb. 2. Arm mit Blutdruckmanschette und Handgebläse, angeschlossenem Manometer nach Hamacher-Vater und Mikrophon zur Aufnahme des Korotkoff-Tones.

Der Manschettendruck wird mittels „Amplitudengetreuer Silhouettenschreibung" über das im Vorjahr angegebene und demonstrierte elektrische Transmissionsmanometer von Hamacher u. Vater registriert. Bekanntlich liefert dieses Instrument eine dem angelegten Druck proportionale Wechselspannung von z. B. 50 Hz, die von allen EKG-Apparaten als mehr oder minder hohe, symmetrische Silhouette, genau wie eine sonst so unbeliebte Netz-Störspannung registriert wird.

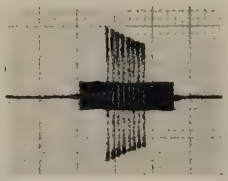


Abb. 3. „Tongesteuerte Manschettendruckschreibung."
(Ausschnitt [Originalgröße] aus dem Registerstreifen eines EKG-Direktschreibers.)
Der horizontale Balken zeigt die Dauer der Meßperiode an.
Eichung: 1 mm Säulenhöhe = 5 mmHg
Registriergeschwindigkeit: reduziert auf 1 mm/sec.
Auswertung: Systol. Druck (1. Säule): 18 mm = 90 mmHg
Diastol. Druck: (2. Säule): 14 mm = 70 mmHg
Pulsfrequenz: 96/min.

Der Ton über der Ellenbeuge wird mit einem kleinen Mikrophon aufgenommen und zur Steuerung eines Relais mit verzögertem Abfall benutzt.

Die Schaltung ist nun so aufgebaut, daß nur dann, wenn das Mikrophon einen Ton aufnimmt, kurzzeitig die Manschettendruckschreibung eingeschaltet wird.

Es wird somit für jeden auftretenden Ton eine schmale Säule registriert, deren Höhe den gerade im Augenblick vorliegenden Manschettendruck exakt angibt.

Ordnet man nun, wie es wohl meist geschieht, dem ersten auftretenden Ton bei abfallendem Manschettendruck den systolischen Druck und dem letzten Ton den diastolischen Druck zu, so kann die Blutdruckhöhe unmittelbar auch vom Ungeübten an der Höhe der ersten bzw. letzten Säule abgelesen werden.

Die Messung kann mehrfach in der Minute wiederholt werden. Kreislaufalterationen werden weitgehend vermieden, da der Manschettendruck zwischen den einzelnen Messungen jeweils ganz abgelassen wird.

Das Verfahren bietet den Vorteil der Objektivität, der Automatisierung und Dokumentation der unblutigen Blutdruckmessung.

Diskussion. Enders (Memmingen): Wie groß ist die Meßgenauigkeit des Verfahrens?

Schmid (Heidelberg): Anfrage, ob das Verfahren von Herrn Hamacher sich mit der Schröderschen fortlaufenden Blutdruckschreibung kombinieren läßt.

Schlußwort. Hamacher zu Enders: Die Meßgenauigkeit des Verfahrens wird durch die Verwendung „auskultatorischer Kriterien" bestimmt und liegt damit in der Größenordnung einer üblichen klinischen Blutdruckmessung. Durch die zwangsläufige Kopplung von Ton- und Druckschreibung werden subjektiv bedingte Fehlerquellen ausgeschaltet. Die Genauigkeit des eigentlichen elektrischen Drucktransmissionssystems ist größer als $\pm 1\%$; ihre Ausnutzbarkeit ist abhängig von der Qualität des nachgeschalteten Registriergerätes.

Zu Schmid: Eine Kombination des elektrischen Manometers nach Hamacher u. Vater mit der fortlaufenden Blutdruckregistrierung nach Schroeder ist mit Vorteil (Direktschreibung) möglich.

H. Halbach (München): Beziehungen zwischen mechanischen und chemischen Einwirkungen auf das isolierte Froschherz.

Die bekannte, positiv inotrope und chronotrope, Wirkung allseitig einwirkenden hohen hydrostatischen Drucks auf das Froschherz kann auch mit hochfrequentem Wechseldruck in Form von Ultraschall reproduziert werden. Nach experimentellem Ausschluß anderer Wirkungsmechanismen des Wechseldrucks wie Wärmewirkung, Ionenverschiebungen können die festgestellten Wirkungen des Wechseldrucks am Froschherz als unmittelbare Wirkungen des mechanischen Drucks aufgefaßt werden. Die bei Anwendung von Wechseldruck mögliche Benutzung eines offenen Systems anstelle der für Gleichdruck erforderlichen Druckbombe erleichtert den Vergleich der Druckwirkung mit der Wirkung bekannter Pharmaka. — Ausgehend von der früher festgestellten Ähnlichkeit der Wirkung hochfrequenten Wechseldrucks einerseits und Strophanthin sowie Calcium andererseits, welche beide hinsichtlich der Kontrakturerzeugung synergistisch wirken, und unter Zugrundelegung der Arbeitshypothese, daß die genannten mechanischen bzw. chemischen Agentien einen gemeinsamen Angriffsort in der Zellmembran haben, wurde die Aufnahme von Brillantkongorot durch den elektrisch gereizten Ventrikel von Esculenten unter gleichzeitiger Einwirkung hochfrequenten Wechseldrucks (800 kHz) untersucht. Dabei wurden Wechseldruck (Intensität 2 Watt/cm^2) sowie Farbstoff (Konzentration $3{,}3 \times 10^{-4}$) in Grenzdosen angewandt, welche die Hubhöhe noch nicht verändern, damit nicht durch allenfalls veränderte Kontraktionsgröße eine Beeinflussung der Farbstoffaufnahme vorgetäuscht wird. Die normalerweise innerhalb 30 min vom Ventrikel gebundene Farbstoffmenge, ausgedrückt durch den Quotienten aus prozentualer Verminderung der angebotenen Farbstoffmenge und aus dem Gewicht des feuchten Ventrikels in Milligramm, beträgt $0{,}33 \pm 0{,}01$. Der entsprechende Wert unter gleichzeitiger Wechseldruckeinwirkung bei sonst gleichen Bedingungen beträgt $0{,}27 \pm 0{,}01$. Somit

wird die vom Herzmuskel aufgenommene Menge Brillantkongorot durch Wechseldruckeinwirkung signifikant verringert ($Q > 3$). Es besteht also eine Parallele zu der von Ruppert festgestellten Verminderung der vom Herzen gebundenen Menge des gleichen Farbstoffs bei gleichzeitiger Einwirkung von Strophanthin. Die Ähnlichkeit dieser Wirkungen von Strophanthin und Wechseldruck ließ sich weiter dadurch erhärten, daß für den Wechseldruckeffekt auf Amplitude und Frequenz des Froschherzens ein thermischer Wirkungsmechanismus bereits ausgeschlossen werden konnte. Auch die Wechseldruckbeeinflussung der Farbstoffbindung ist kein Wärmeeffekt, da die Menge des gebundenen Farbstoffs bei Erwärmung vergrößert wird, im Gegensatz zu der Verringerung derselben bei Wechseldruckeinwirkung.

Die gleichartige Beeinflussung der Farbstoffbindung durch Wechseldruck bzw. Druck einerseits und Kontrakturstoff andererseits ist in Übereinstimmung mit anderweitig unterbauten Hypothesen, nach welchen sowohl das chemische Agens Strophanthin bzw. Calcium als auch das mechanische Agens Druck im gleichen (stabilisierenden) Sinn an der Membran angreift.

M. Reiter (München): Natriumspeicherung bei der Ermüdung des isolierten Herzstreifens der Ratte.

In Fortsetzung von Arbeiten am hypodynamen Herzmuskel wurde die Beziehung der „Ermüdung" des Muskels zu seinem Gehalt an Kalium und Natrium am Herzstreifenpräparat der Ratte untersucht.

Bei einer Reizfrequenz von 1/sec verringerte sich die Kontraktionsstärke (Amplitudenhöhe) der Herzmuskelstreifen nach 75 min um die Hälfte. Der K-Gehalt der Streifen nahm dabei um 13,7 mMol/kg Feuchtgewicht ab, während der Na-Gehalt um 22,9 mMol/kg Feuchtgewicht zunahm. Der Wassergehalt der Streifen erhöhte sich dabei um 0,75% des Feuchtgewichtes. Dieser Betrag reicht nicht aus, um die durch Kaliumabgabe nicht kompensierte Natriumaufnahme auf eine Vergrößerung des Intercellulärraumes zu beziehen, selbst nicht bei der Annahme, daß die Zunahme des Wassergehaltes lediglich durch Vergrößerung der Zwischenzellräume verursacht ist.

Neben der schon aus früheren Untersuchungen verschiedener Autoren bekannten Vermehrung des Na- und Verminderung des K-Gehaltes im hypodynamen Herzmuskel ergeben diese Versuche, daß der Austausch der beiden Ionen bei der „Ermüdung" der Herzstreifen nicht quantitativ ist und daß ihre Gesamtkonzentration zunimmt. Es ist möglich, daß die den Kaliumverlust übersteigende Zunahme von Natrium außer auf einem vermehrten Kationenbedarf auf einer verminderten Fähigkeit zur Natriumelimination der hypodynamen Muskelzelle beruht.

G. Malorny (Kiel): Über einen neuen Ergotamin- und Calciumeffekt am Langendorff-Herzen.

Mit 2 Textabbildungen.

Vor einigen Jahren prüfte ich mit Albertsen (1951) natürliche und synthetische Xanthinkörper auf ihre Coronargefäßwirksamkeit am Langendorff-Herzen. Aus Sparsamkeitsgründen wählten wir damals auch Herzen von Tieren, an denen wir vorher Blutdruckversuche mit anderen Stoffen angestellt hatten. Dabei konnten wir zwei neuartige Befunde erheben. Während die Mehrzahl der Herzen auf Coffein mit der üblichen Coronardilatation ansprach, verhielten sich die Herzen, bei denen wir dem Tier vorher Ergotamin oder Calciumsalze verabfolgt hatten, dem Coffein gegenüber völlig refraktär.

Befassen wir uns zunächst mit dem Ergotamineffekt (Abb. 1). Durchströmt man ein nach Langendorff isoliertes Kaninchen- oder Katzenherz mehrere Male hintereinander mit einer coffeinhaltigen Tyrodelösung ($0{,}4 \cdot 10^{-4}$), so tritt regelmäßig die gewohnte Coronardilatation auf. Eine Tachyphylaxie tritt nicht ein. Wenn man aber nach der Prüfung der Coffeinansprechbarkeit das Herz für 2—3 min mit einer Lösung, die Ergotamintartrat in einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-6}$ enthält, durchströmt, so stellt man fest, daß die Coffeinwirkung nach der Ergotaminbehandlung erloschen ist. Dieser Befund ist gesichert.

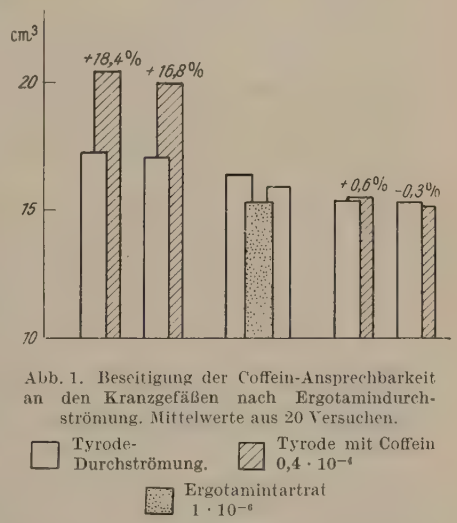


Abb. 1. Beseitigung der Coffein-Ansprechbarkeit an den Kranzgefäßen nach Ergotamindurchströmung. Mittelwerte aus 20 Versuchen.
□ Tyrode-Durchströmung. ▨ Tyrode mit Coffein $0{,}4 \cdot 10^{-4}$
▩ Ergotamintartrat $1 \cdot 10^{-6}$

Es lag nahe, weitere Sympathicolytica gegen Coffein zu prüfen und andere coronarerweiternde Stoffe gegen die Sympathicolytica zu untersuchen. Dabei zeigte sich, daß auch DHE 45 den Coffeineffekt beseitigt, ebenso Hydergin, 933 F, Dibenamin und Yohimbin. Durch Ergotamin wird ferner die Adrenalin- und Nor-Adrenalinwirkung stark abgeschwächt; sie wird aber nicht ganz beseitigt. Effortil und Veritol werden wirkungslos. Wir haben dann auch solche coronarerweiternde Stoffe gewählt, denen man im allgemeinen keine sympathicomimetischen Wirkungen nachsagt. Bemerkenswerterweise werden die Wirkungen des Papaverin, des Kallikrein und des Histamin stark abgeschwächt. Nur die Coronardilatation nach ATP $0{,}5 \cdot 10^{-5}$ wird durch die sympathicolytische Zwischenbehandlung wenig

betroffen. Es sei noch darauf hingewiesen, daß die Sympathicolytica selbst gewisse Eigenwirkungen besitzen. Sie rufen in den angewandten Konzentrationen eine deutliche Vasoconstriction der Kranzarterien hervor, die sich allerdings nach Auswaschen mit Tyrodelösung wieder weitgehend zurückbildet.

Die Deutung der Befunde bereitet einige Schwierigkeiten. Zunächst taucht die Frage auf, ob die Coffein-Vasodilatation vielleicht als sympathicomimetischer Effekt zu deuten sei, der durch die Sympathicolytica unterdrückt werde. Gegen eine solche Hypothese sprechen mehrere Gründe, vor allem aber die Tatsache, daß auch die Coronardilatation nach Papaverin, Kallikrein und Histamin durch die Zwischenbehandlung mit Sympathicolyticis stark vermindert wird.

Man könnte ferner daran denken, daß durch die Sympathicolytica die Gefäßtonuslage verändert oder die Membranpermeabilität vermindert werde. Gegen beide Auffassungen lassen sich Einwände erheben.

Die beste Erklärung ist wohl darin zu sehen, daß Ergotamin und die anderen Sympathicolytica bestimmte Receptoren an den Gefäßen, die auf Reizung mit Dilatation antworten, blockieren. In diesem Zusammenhange möchte ich auf unsere mit Orzechowski (1940) entwickelte Theorie der Receptorblockade durch Sympathicolytica und andere Stoffe hinweisen.

Wie schon angedeutet, wird die durch Coffein bedingte Coronardilatation durch Ca^{++} völlig aufgehoben. Es genügt hierzu, den Ca^{++}-Gehalt der normalen Tyrodelösung, der 1,802 mMol beträgt, um 0,57 mMol zu erhöhen. Die Ca^{++}-haltige Nährlösung selbst wirkt coronarerweiternd, und trotzdem ist die Coffeinwirkung verschwunden. Andere Ionen im Überschuß, wie K^+ oder Mg^{++}, lassen die Coffein-Dilatation fast unverändert. Dies ist bemerkenswert, da K^+ den Coronardurchfluß vermindert, während Mg^{++} ihn erhöht.

Es gelingt nicht, den Ca^{++}-Effekt durch häufiges Auswaschen mit einfacher Tyrodelösung zu beseitigen. Das Calcium sitzt außerordentlich fest. Benutzt man zum Auswaschen hingegen eine Tyrodelösung, in der der K^+-Gehalt um 30% erhöht ist, so kehrt die Coffeinansprechbarkeit ziemlich schnell wieder (Abb. 2). Betrug die Vermehrung der Durchströmungsmenge nach Coffein zu Beginn des Versuchs +16,1%, so kehrt sie nach der wiederholten K^+-Durchströmung auf +9,5% zurück. Dieser Befund ist deswegen wichtig, weil beim Umschalten auf die mit K^+ angereicherte Lösung regelmäßig eine Vasoconstriction zu beobachten ist.

Es läßt sich ferner zeigen, daß auch eine Erhöhung der Mg^{++}-Konzentration in der Tyrodelösung die Coffeinwirkung wiederbringt. Der äquimolare Zusatz von Mg^{++} und K^+ zur Durchströmungsflüssigkeit durchbricht den hemmenden Ca^{++}-Effekt am eindrucksvollsten.

Nun einige Worte zur Deutung des Calciumeffektes! Es liegt zunächst nahe, die Beseitigung der Coffeinansprechbarkeit an den Coronargefäßen durch die membrandichtende Wirkung des Calciums zu erklären; dies um so eher, als schon vor langer Zeit S. Weber (1911) nachgewiesen hat, daß Coffein die Capillardurchlässigkeit erhöht. Die Coronardilatation nach Coffein müßte danach als sekundäre Rückwirkung einer Stoffwechselsteigerung erklärt werden. Andererseits ist aber gerade vom

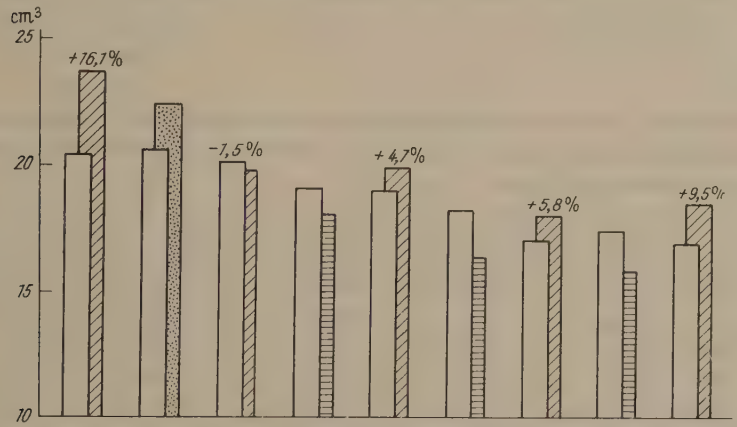


Abb. 2. Versuche zur Aufhebung des Ca^{++}-Effektes durch wiederholtes Auswaschen mit K^{+}-angereicherter Tyrodelösung.

Tyrode-Ausgangswerte. Tyrode mit Coffein $0{,}4 \cdot 10^{-4}$. Tyrode mit 0,57 mMoll aC^{++} angereichert. Zusatz von 0,57 mMoll K^{+} zur Tyrode-Lösung.

Calcium bekannt, daß es eine hohe Affinität zu den vegetativ-nervösen Receptoren besitzt und hier kompetetiv hemmend wirken kann. Wir haben vor einiger Zeit den Nachweis erbracht, daß Ca-Ionen im Überschuß ein universelles Antidot gegen die Lähmungszustännde nach d-Tubocurarin, Mg-Ionen und Dekamethonium darstellen (Malorny, 1953). Es wird darum die Hypothese vertreten, daß die Ca-Ionen imstande sind, auch die spezifischen Receptoren an den Gefäßen bzw. an den Strukturen der Muskelmembran zu besetzen.

Literatur.

Albertsen, J.: Inaug.-Diss. Kiel 1951. — Malorny, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 147 (1953). — Malorny, G., u. G. Orzechowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 245 (1940). — Weber, S.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **65**, 389 (1911).

Diskussion. Oelssner (Leipzig): Graupner konnte am Herzmuskelstreifenpräparat der Ratte die von Malorny beschriebenen Effekte ebenfalls nachweisen. Der

positiv inotrope Coffein-Effekt (10^{-4}) wird durch Ergotamin (10^{-5}) vollständig aufgehoben. Gleichsinnig wirken Calcium-Ionen. Kalium sensibilisiert für den Coffein-Effekt.

Schlußwort. Malorny zu Oelssner: Am elektrisch gereizten Herzstreifenpräparat des Frosches wird nach Versuchen mit H. F. Benthe durch Ergotamin (10^{-5}) die positiv inotrope Wirkung des Coffeins ($0{,}2 \cdot 10^{-3}$) stark abgeschwächt, während Ca^{++}-Überschuß keinen Einfluß zeigt. Demgegenüber wird der positiv dromotrope Coffein-Effekt sowohl durch Ergotamin als auch durch Ca^{++} beseitigt. K^{+} wirkt auf die Coffeinwirkung sensibilisierend. Die Beeinflussung der Erregungsleitung ist als Membraneffekt zu deuten. Auch hier scheinen spezifische Receptoren eine Rolle zu spielen.

H. Mercker (Göttingen), E. L. Foltz und J. W. West (Philadelphia): Durchblutung, Energetik und Sauerstoffversorgung des Herzmuskels bei renaler Hypertonie.

Bei Hunden wurde mit der Cellophan-Perinephritis-Methode von Page eine renale Hypertonie hervorgerufen. Experimentell wurden gemessen bzw. aus gemessenen Daten errechnet: Die Coronardurchblutung pro 100 g Herzmuskel des linken Ventrikels mit der N_2O-Methode (Kety u. Schmidt; Goodale und Mitarbeiter), der O_2-Verbrauch des Herzmuskels, der mittlere arterielle Blutdruck, das Herz-Minuten-Volumen (Fickssches Prinzip), die Herzarbeit, die Pulsfrequenz, der Strömungswiderstand im peripheren Kreislauf und im Coronargebiet, die coronare AVD_{O2} und die O_2-Sättigung des venösen Blutes im Coronarsinus. Die Versuche wurden in Narkose durchgeführt (Morphin, Dial, Urethan und Pentobarbital). Unter den Bedingungen der renalen Hypertonie sind die Werte der Coronardurchblutung pro 100 g Gewebe und der O_2-Verbrauch des Herzmuskels pro 100 g von dem Wert für normale Hunde nicht signifikant verschieden. (Mittelwerte: $90 \pm 4{,}6$ ccm/100 g min für 20 Hunde mit renaler Hypertonie; $85 \pm 8{,}7$ cm^3/100 g min für normale Hunde). Die Berechnung des Strömungswiderstandes im Coronargebiet für 100 g Gewebe zeigt bei der renalen Hypertonie eine leichte Erhöhung. Dieser Befund ist jedoch nicht ohne weiteres auf anatomische Veränderungen der Gefäße zurückzuführen, da folgende Faktoren ursächlich daran beteiligt sein können:

a) Die Kontraktionskraft des Herzmuskels muß als Folge der Hypertonie erhöht werden. Dadurch kann rein mechanisch der Strömungswiderstand beeinflußt werden.

b) Die Zahl der Capillaren pro Gewichtseinheit des Herzmuskels ist bei der Hypertrophie (infolge der Hypertonie) vermindert (Literatur bei Grant). Dadurch kann der Strömungswiderstand erhöht sein. Vor kurzem haben auch Brose u. Schaefer auf die Bedeutung der capillären Strombahn für den Widerstand im Coronargebiet hingewiesen.

c) Die Coronararterien können bei der Herzhypertrophie erweitert sein, wie von SHILLINGFORD gezeigt wurde. Dadurch würde der Strömungswiderstand erniedrigt werden.

Vorerst lassen sich die einzelnen Faktoren quantitativ noch nicht gegeneinander abgrenzen.

Für eine hinreichende O_2-Versorgung der Herzmuskelzelle ist namentlich die O_2-Sättigung des venösen Blutes von Bedeutung. Sie unterschied sich bei den Hunden mit renaler Hypertonie nicht von dem Wert für normale Hunde (Mittelwerte in Sätt.-% für renale Hypertonie $25{,}7 \pm 1{,}6$; für normale Hunde $29{,}6 \pm 2{,}9$). Die O_2-Spannung, die diesen Sättigungswerten entspricht, ist etwa 20 mm Hg p O_2. Für eine einfache O_2-Diffusion in die (zylindrisch gedachte) Herzmuskelzelle müßte dieser Wert auch bei der Hypertrophie bei weitem ausreichen. Die rechnerische Abschätzung der O_2-Diffusion im Herzmuskel ist jedoch schwierig (vgl. OPITZ u. THEWS). Möglicherweise spielen rhythmisch verlaufende Vorgänge eine Rolle, wie Spitzen im O_2-Verbrauch während eines Herzcyclus, Reduktion und Wiederaufsättigung des Myoglobins und Drosselung der Durchblutung während der Systole.

Da die N_2O-Methode bei der einzelnen Messung jeweils nur *einen* Wert der Durchblutung ergibt, wurde geprüft, inwieweit zwei Messungen im Abstand von 25 min sich unterscheiden. Es ergab sich, daß die zwei Messungen für alle untersuchten Größen hinreichend übereinstimmen, so daß das Präparat für pharmakologische Untersuchungen geeignet erscheint.

Literatur.

BROSE, W., u. H. SCHAEFER: Z. Biol. **106**, 81 (1953). — GOODALE, W. T., and al.: Amer. J. Physiol. **152**, 340 (1948). — GRANT, R. P.: Amer. Heart. J. **46**, 154 (1953). — KETY, S. S., and C. F. SCHMIDT: J. Clin. Invest. **27**, 476 (1948). — OPITZ, E., u. G. THEWS: Arch. Kreislaufforsch. **18**, 137 (1952). — PAGE, J. H.: J. Amer. Med. Assoc. **113**, 2046 (1939). — SHILLINGFORD, J.: Brit. Med. Bull. **8**, 320 (1951/52).

Diskussion. KIESE (Marburg): Ist der Wirkungsgrad der Hypertonieherzen von dem normaler verschieden? Welcher intracelluläre O_2-Druck ist in den Muskelzellen der hypertrophierten Herzen bei dem beobachteten venösen O_2-Druck von 20 Torr anzunehmen?

Schlußwort. MERCKER: Die Berechnung des Nutzeffektes war nicht in allen Fällen möglich, da mehrere Versuche im Abstand von Wochen am gleichen Tier durchgeführt wurden und daher das Gewicht des linken Ventrikels nicht für jede Messung bekannt war. Soweit das Gewicht des linken Ventrikels bestimmt wurde, betrug die Hypertrophie 150% (Kontrollen = 100%). Die Abschätzung des Nutzeffektes ergab sowohl für die Kontrollen wie auch bei renaler Hypertonie einen Wert von etwa 20%. Die im Innern der Herzmuskelzellen herrschenden O_2-Spannungen sind nur mit zahlreichen Annahmen (rhythmischer Durchblutung, etwaige Spitzen im σ_2-Verbrauch) näherungsweise zu berechnen. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß auch eine etwa 90%ige Sättigung des Myoglobins etwa 20 mm Hg Sauerstoffspannung erfordert.

J. Dörner und H. J. Kuschke (Gießen, Bad-Nauheim): Besitzen die aus Crataegus gewonnenen Triterpensäuren (Crataegussäuren) eine pharmakodynamische Wirkung?

Crataegusextrakte haben in den letzten Jahren zunehmende Verbreitung gefunden. Die günstige Wirkung wird neben glykosidartigen insbesondere coronargefäßerweiternden Inhaltsstoffen zugeschrieben. Bei diesen letzteren handelt es sich um ein Gemisch von Triterpensäuren, auch als Crataegussäuren bezeichnet. Schimert u. Blömer haben diese Crataegussäuren tierexperimentell mit der Thermostromuhr untersucht und langanhaltende Steigerungen der Coronardurchblutung beschrieben, die sie auf eine direkt dilatierende Wirkung der Substanzen zurückführten.

Wir haben die Crataegussäuren, die uns von der Firma Byk-Gulden freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden, an 20 Hunden, 5 Kaninchen und einigen Merrschweinchen untersucht. Die Substanzen wurden intravenös injiziert. Sie sind nur in 96%igem Alkohol und einigen organischen Lösungsmitteln löslich. Wir stellten fest, daß sie schon bei Zugabe geringster Mengen im Blutserum sofort ausfallen. Damit besteht die Wahrscheinlichkeit, daß sie auch in der Blutbahn ausfallen.

Zunächst haben wir bei einem Teil der Tiere die Coronardurchblutung mit der Thermostromuhr gemessen. Dabei erhielten wir bei intravenöser Injektion ähnlich wie Schimert Durchblutungskurven, die eine starke und langanhaltende Zunahme der Coronardurchblutung anzuzeigen schienen. Injizierten wir dagegen die Crataegussäuren unter Umgehung der Lungen in eine Vena pulmonalis, dann kam es lediglich zu einer kurzdauernden Mehrdurchblutung, die durch den gleichzeitig mitinjizierten Alkohol bedingt war. Dadurch war der Beweis erbracht, daß die Crataegussäuren keine direkt dilatierende Wirkung auf die Herzkranzgefäße besitzen.

Es erhob sich die Frage, wie es zu den bei intravenöser Injektion auch von uns beobachteten, langanhaltenden Veränderungen der Durchblutungskurve kam. Es fiel uns bald auf, daß nach Injektion der Crataegussäuren bei den künstlich beatmeten Tieren Spontanatmungen auftraten, d. h. das Atembedürfnis der Tiere war vergrößert. Diese Spontanatmungen traten immer gleichzeitig mit den Veränderungen der Coronardurchblutungskurve auf. Wurde das gesteigerte Atembedürfnis durch Vergrößerung der Beatmung befriedigt, dann kehrte die Coronardurchblutungskurve sofort auf Ausgangsniveau zurück. Der Zusammenhang zwischen Atemsteigerung und Veränderungen der Coronardurchblutungskurve war damit aufgezeigt. Da die Atemwirkung wie die Coronarwirkung bei Injektion in eine Vena pulmonalis nicht auftrat, mußte der Angriffspunkt für die atemsteigernde Wirkung der Crataegussäuren auf

dem Wege zwischen intravenöser Injektionsstelle und den Lungenvenen liegen.

An Hunden mit uneröffnetem Thorax haben wir diese Atemsteigerungen durch Messung des Atemvolumens mit der Gasuhr quantitativ erfaßt. Bei einem Teil der Tiere wurde gleichzeitig die arterielle O_2-Sättigung nach KRAMER gemessen. Es zeigte sich, daß nach Crataegussäureinjektionen ganz beträchtliche Atemsteigerungen statt fanden. So wurden z. B. bei einem Ausgangsvolumen von 2—3 Liter/min gegen Versuchsende Werte von 10—15 Liter/min gemessen. Doppelseitige Vagusdurchschneidung blieb hierauf ohne Einfluß. Die arterielle O_2-Sättigung sank im Laufe des Versuchs auf extrem niedrige Werte ab. Diese Befunde lassen sich nur durch eine Störung der Sauerstoffaufnahme in den Lungen erklären. Dies konnten wir durch autoptische, makroskopische und mikroskopische Untersuchungen bestätigen. Es fanden sich in den Lungen Ödeme und diffuse Hämorrhagien aller Stärkegrade. Sämtliche Veränderungen waren auch durch reinen Alkohol und durch alkoholfreie Crataegussäure-Suspensionen herbeizuführen. Damit war der Wirkungsort der Crataegussäurelösungen in den Lungen lokalisiert.

Zu klären blieb noch die Frage, wie die Veränderungen der Coronardurchblutungskurve zustande kamen. Wir fanden als Ursache, daß durch die starken Atemexkursionen der Tiere nach Injektion der Crataegussäurelösungen die Element-Ruhelinie nach oben verschoben wurde. Dadurch kommt es am aufgeheizten Element zu einer entsprechenden Veränderung des Ausschlages und es wird eine Mehrdurchblutung vorgetäuscht, die in Wirklichkeit nur eine Pseudoreaktion darstellt, bedingt durch eine methodische Unzulänglichkeit der Thermostromuhr unter den besonderen Bedingungen dieser Versuche. Ob darüberhinaus noch eine wirkliche Mehrdurchblutung vorhanden war, ist unerheblich, da es sich in diesem Fall nur um die Folge der beschriebenen Lungenschädigungen handeln konnte.

Als Folgerung ergibt sich aus unseren Versuchen: Die in Crataegus enthaltenen Triterpensäuren besitzen keine coronarerweiternde Wirkung. Im Mittelpunkt des ganzen Wirkungsbildes stehen Veränderungen der Atmung als Folge ausgeprägter toxischer Schädigungen der Lungen, die durch die Crataegussäuren wie auch durch den mitinjizierten Alkohol bedingt sind. Alle Veränderungen der von uns registrierten Größen sind lediglich als die Folge der durch die Lungenschädigungen hervorgerufenen Atem- und Kreislaufumstellung anzusehen. Darüberhinaus konnten die Veränderungen der Coronardurchblutungskurve auf methodische Unzulänglichkeiten zurückgeführt werden. Eine pharmakodynamische Wirkung der Crataegussäuren, die nicht als die Folge der beschriebenen toxischen aufzufassen ist, muß verneint werden.

Diskussion. Schimert (München): Es sieht so aus, als ob wir unsere Untersuchungsergebnisse bzw. ihre Deutung revidieren müßten. Aber ich glaube, daß sich gewisse Differenzen dadurch ergeben, daß wir nicht die gleichen Substanzen angewendet haben. Wir führten unsere Untersuchungen mit reinsten Substanzen durch: Oleanolsäure mit einem Schmelzpunkt von 304°, Ursolsäure mit 279° und Crataegolsäure mit 242—244° C. Soviel ich weiß, enthält das von den Autoren benutzte Crataegussäuregemisch neben den drei genannten Säuren noch ein Derivat der Ursolsäure mit einem Schmelzpunkt von 206° C, das um das Mehrfache toxischer ist als die Crataegussäuren.

Methodische Irrtümer konnten wir dadurch ausschließen, daß wir bei verschlossenem Thorax unter Spontanatmung gearbeitet haben. Den Nullpunkt haben wir mehrfach während der Versuche kontrolliert und unverändert gefunden. Versuche mit verändertem Nullpunkt wurden nicht verwertet.

Während wir bei Crataegussäuremischungen eine Atmungssteigerung sehen konnten, war diese bei den reinen Säuren bzw. ihren Natriumsalzen nicht zu beobachten. Ein Lungenödem sahen wir nicht auftreten. Die Versuchstiere konnten nach 10—20 mg Crataegussäure noch 4—5 Std am Leben gehalten werden. Eine signifikante Änderung des Venendrucks sahen wir auch nicht. Diese wäre bei einem Lungenödem unbedingt zu erwarten. Wir werden unsere Untersuchungsergebnisse nochmals einer eingehenden Prüfung unterziehen.

Die reinen Crataegussäuren stammten von einer anderen Stelle als die Substanzen, mit denen Dörner u. Kuschke gearbeitet haben. Wie ich in meiner Arbeit mit Blömer am Schluß bemerkt habe, bin ich keineswegs der Ansicht, daß die Wirkung von Crataegus in erster Linie auf dieser kranzgefäßerweiternden Wirkung beruht.

Hauschild (Leipzig): Wir haben Crataegussäuren am isolierten Warmblüterherz, am isolierten Papillarmuskel und dem Herzstreifenpräparat untersucht und konnten niemals eine positiv inotrope Wirkung feststellen. Wurde Butylenglykol als Lösungsmittel benutzt, waren Wirkungen feststellbar, welche dem Lösungsmittel, aber nicht den Triterpensäuren zukommen.

Es wurde weiterhin die eventuelle Beeinflussung der Digitoxin- bzw. Strophanthintoxicität durch Vorbehandlung oder gleichzeitige Gabe der Triterpensäuren geprüft (Meerschweinchenmethode). Butylenglykolhaltige Infusionslösungen beeinflußten die letale Dosis der Glykoside beträchtlich; der Effekt ist durch das Lösungsmittel, nicht durch die Triterpensäuren bedingt.

Brücke (Wien): Es ist für denjenigen Pharmakologen, welcher die Zulassung von Spezialitäten zum Verkauf beurteilen soll, außerordentlich schwierig, Präparate wie die aus Crataegus zu beurteilen, da die pharmakologischen Behauptungen sich direkt widersprechen. Die Tatsache, daß Crataegus-Extrakte fast nie allein in einer Spezialität vorhanden sind, sondern z. B. mit Digitalisblättern kombiniert werden, deutet wohl auf eine sehr geringe Wirksamkeit hin.

Schlußwort. Kuschke zu Herrn Prof. Schimert: Die von uns verwendeten Crataegussäuren wurden uns, wie erwähnt, von der Fa. Byk-Gulden zur Verfügung gestellt, mit der Angabe, daß es sich um die gleiche Substanz handelt, die von Ihnen untersucht wurde. Wir selbst können nicht beurteilen, ob die Substanzen chemisch identisch waren. — Was die Nullinienabweichung anbetrifft, so halten wir es durchaus für möglich, daß diese bei wieder luftdicht geschlossenem Thorax und abgesaugtem Pneu nicht auftritt. Eine evtl. vorhandene reelle Mehrdurchblutung bei intravenöser Injektion ist jedoch, wie bereits betont, ohne Bedeutung,

da es sich nur um die Folge einer toxischen Schädigung handeln kann und eine lokal dilatierende Wirkung nicht vorliegt.

Zu Herrn Prof. Hauschild: Wir sind mit Ihnen der Ansicht, daß die Steigerung der Digitalistoxicität durch Crataegussäuren nicht auf einer echten synergistischen Wirkung der letzteren am Herzen beruht.

H. F. Häusler und R. G. Filippi (Graz): Pharmakologische Strukturanalyse von Nabelschnurarterien.

Die bekannte Gefäßstreifenmethode von O. B. Meyer hat Häusler 1933 erstmalig verwendet, um eine pharmakologische Strukturanalyse von Arterien durchzuführen: Wenn nebeneinander Ketten von Gefäßringen, schraubenförmig geschnittene Streifen und Längsstreifen unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka verglichen werden, kann man aus dem „Kräfteparallelogramm" der Kontraktion bzw. Erschlaffung Rückschlüsse auf die strukturelle Anordnung der Muskelfasern in der Gefäßwand ableiten.

Auf diese Art hat Häusler zuerst die *Mesenterialarterien* des Rindes untersucht und eine schraubenförmig ineinander verflochtene Ringmuskulatur festgestellt. Pichler, Lazarini u. Filippi fanden bei *Kopfarterien* des Menschen und des Rindes Unterschiede zwischen intra- und extracraniellen Gefäßen: Die intracraniell gelegenen Gefäße zeigen sowohl beim Rinde als auch beim Menschen steile Schraubentouren, während im Gefäßgebiet der Carotis ext. nur beim Menschen steile Schraubentouren, beim Rinde jedoch hauptsächlich Ringmuskelfasern zu finden sind. Bei *Coronarien* konnten von Häusler u. Filippi drei strukturelle Abschnitte im Gefäßverlauf — von vorwiegender Schraubenstruktur der großen Gefäße angefangen über hauptsächlich ringförmige Anordnungen in den mittleren Abschnitten bis zu steilen Schraubentouren in den kleinen Gefäßen — unterschieden werden.

Mit der geschilderten Methode sind nun auch *Nabelschnurarterien* untersucht worden, bei denen histologische Befunde von v. Hayek, Goerttler u. Gänshirt eine schraubenförmige Anordnung der Gefäßmuskulatur erwarten ließ: Tatsächlich zeigten *Ring*-Ketten in der Mehrzahl der Versuche keine Änderung unter Histamin; wo doch (im Verhältnis zu Schrauben- oder Längsschnitten jedoch geringe) Kontraktionen beobachtet wurden, beruht dies wohl darauf, daß bei der zum Durchmesser von 2—3 mm relativ großen Breite der Ringe von etwa 1 mm flachschraubig verlaufende Fasern miterfaßt werden. Auffallend ist das Überwiegen *schraubig angeordneter Muskulatur*: Die kräftigsten Kontraktionen überhaupt zeigen Schraubenstreifen von etwa 45° Steigungswinkel; es kontrahierten sich jedoch alle Suspensionen, die einen schraubenförmigen Faserverlauf von etwa 15° bis gegen 90° wiedergeben, so daß der Schluß gezogen werden muß, daß die Schraubentouren verschieden

steil verlaufen und, da die Kontraktionen sowohl bei links- als auch bei rechtsgängiger Schnittführung gleichstark waren, scherenförmig angeordnet sind. Schließlich sind noch *Längsfasern* vorhanden, wenn auch nicht so stark ausgebildet wie die schraubenförmigen; freilich muß hier, ähnlich wie bei den Ringen für die flach verlaufenden Fasern in Erwägung gezogen werden, daß, bei der Kleinheit der Streifen, sehr steil aber doch noch schraubig verlaufende Fasern als Längsmuskulatur in Erscheinung treten könnten. Intakte Gefäß-Längsstücke reagieren, wie das bei der außerordentlichen Verflechtung der kontraktilen Elemente ja nicht anders zu erwarten war, sehr gering. Zusammenfassend kann, wie ja bereits gezeigt, die Struktur der Nabelschnurarterien aus den Befunden der stärksten Kontraktion des 45°igen Schraubenstreifens, der geringeren Verkürzung des Längsstreifens und der praktisch fehlenden Reaktion von Gefäßringen als vorwiegend schraubenförmig bezeichnet werden.

Bezüglich der Wirkung von Pharmaka auf die Nabelschnurarterien ist hervorzuheben, daß diese viel empfindlicher reagieren als Mesenterialarterien, die Gefäße des Kopfgebietes und die Coronarien. *Histamin*, dessen Wirkung erwartungsgemäß durch Neo-Antergan unterdrückt wird, kontrahiert bereits in der Konzentration 1:10 Millionen, es folgen mit abnehmender Wirksamkeit: *Adrenalin*, bei welchem es nach Ergotamin auch bei den Nabelschnurarterien zur sog. Wirkungsumkehr kommt. *Acetylcholin*, *Nor-Adrenalin*, $BaCl_2$, *Ergotamin*, dann in weitem Abstand: *Coffein*, *Dihydroergotamin* und *Hypophysenhinterlappenextrakt*. Erschlaffend wirken: *Papaverin* und *Amylnitrit* bereits in der Konzentration 1:1 Million, Natrium lacticum erst ab 1:10000. Sauerstoff mehr als 20 Vol-% und Abkühlung von 37,5° C auf 20° C führt zu starker Kontraktion, bei Kohlendioxyd ab 10 Vol-% (in reinem Sauerstoff) sowie bei Stickstoff über 80 Vol-% und bei Erwärmung von 37,5° C auf 40° C kommt es zur Erschlaffung der Nabelschnurarterien.

Nach der Schilderung dieser auf pharmakodynamischem Wege erhobenen Befunde hinsichtlich der *Struktur* und der *Reaktion* der Nabelschnurarterien auf Pharmaka sei es erlaubt, die Frage nach der *Funktion*, i.e. nach der besonderen Bedeutung dieser Verhältnisse zu ventilieren; haben doch die Umbilicalarterien die Aufgabe zu erfüllen, der Placenta eine genügende Blutmenge zum Stoff- und Gasaustausch auch unter erschwerten Bedingungen des intrauterinen Lebens zur Verfügung zu stellen, etwa bei Quetschung, Zerrung, Drehung oder Verschlingung der Nabelschnur. Daß sie diesen Anforderungen optimal gerecht zu werden vermögen, was ja die geburtshilfliche Praxis bestätigt, läßt sich tatsächlich aus den Gegebenheiten ihres Wandbaues erklären: Bei den mit ungleich kräftigerer Muskulatur als die Coronarien ausgestatteten Nabelschnurarterien dürfte demnach die bereits dort diskutierte Bedeutung für die *Erhaltung der Gefäßstatik gegenüber äußeren Einflüssen* eine der

Hauptaufgaben der Wandstruktur sein; in diesem Zusammenhang sei auch darauf hingewiesen, daß schon Goerttler u. Gänshirt betont haben, daß die Kontraktion einer so konstruierten Gefäßwand unter bestimmten Voraussetzungen eine paradoxe Erweiterung des Lumens bewirken kann, ein Befund, den wir früher an der Art. basalis des Menschen erhoben und nun auch für die Nabelschnurarterien experimentell sichern konnten. Ferner ist an das Problem des *postnatalen Gefäßverschlusses* zu denken, wofür die vorwiegend schraubenförmige Struktur der Umbilicalgefäßmuskulatur eine maßgebende aktive Rolle spielen dürfte: Wenn v. Hayek meint, daß die Kontraktion einer schraubig angeordneten Gefäßmuskulatur einen vollständigen Verschluß des Lumens bewirkt, während bei zirkulärer Anordnung nur eine minimale Lumenverengung zu erwarten ist, steht das in Einklang mit unseren Befunden, daß eine starke Kontraktion eben dieser Muskulatur auf Sauerstoff oder auf Abkühlung erfolgt. Zusammenfassend kann hervorgehoben werden, daß die Struktur der Nabelschnurarterien einerseits mit ihrer starken steilschraubigen Komponente einen Schutzmechanismus gegen Verengung des Lumens darstellt, andererseits durch ihre flachschraubigen Faseranteile einen optimalen Verschluß des Lumens gewährleistet.

G. Grupp, F. Kasten und A. Wiederhold (Freiburg): Die Durchmesser- und Längenänderung kleiner Arterien vom muskulären Typ durch Druck unter verschiedenen Pharmaka.

Frische Mesenterialarterien vom Rind mit einem Durchmesser von 1,5—2,5 mm als Vertreter kleiner Arterien vom muskulären Typ wurden auf ihre Reaktion unter Adrenalin-, Nor-Adrenalin-, Acetylcholin-, Bariumchlorid- und Histamineinwirkung untersucht. Dabei wurde die Längenveränderung direkt registriert. Die Änderung des Volumens wurde mit Hilfe eines volumetrisch geeichten Quecksilbermanometers, das in eine Seite der Arterie eingebunden war, gemessen. Ein Nebenschluß ermöglichte es, den Druck in dem untersuchten Arterienstück durch Zusatz von Tyrodelösung beliebig zu erhöhen.

Die spontane Reaktionsweise der Gefäße auf die oben angegebenen Stoffe läßt drei Typen erkennen:

a) Das Gefäß wird verlängert, das Volumen vermindert, der Durchmesser wird kleiner.

b) Das Gefäß wird verlängert, das Volumen ändert sich wenig oder nicht, der Durchmesser wird nur geringfügig verkleinert.

c) Das Gefäß wird verkürzt, das Volumen bleibt gleich oder wird etwas vergrößert, der Durchmesser wird etwas größer.

Es ist auffällig, daß alle Gefäßstücke, die in einem der drei Typen reagieren, auf alle Stoffe gleich ansprechen. Dabei ist jedoch die Wirkung

quantitativ unterschiedlich. Aus diesem Verhalten wird geschlossen, daß der Wandbau kleiner Arterien vom muskulären Typ aus dem gleichen Gefäßbezirk grundsätzliche strukturelle Unterschiede zeigen muß.

Weiterhin wurde bei diesen Gefäßen der Druck stufenweise um je 20 mm Hg, bis zu maximal 120 mm Hg, erhöht. Aus der Volumenzunahme und der Längenänderung wurde die Durchmesserveränderung errechnet. Die gefundenen Werte ergaben ein Druck-Dehnungsdiagramm, das bei der unbeeinflußten Arterie meistens einen sigmoidförmigen Verlauf (Wezler) zeigte. Die Gefäße, die mit Adrenalin oder Nor-Adrenalin 1:500000 beeinflußt waren und die auf diese Stoffe wie Typ a (starke Gefäßverengerung) reagierten, zeigten Wandverfestigungen, Verminderung der Längenzunahme und im Druck-Dehnungsdiagramm einen gegen die Abszisse konvexen Verlauf, entsprechend dem Kontraktionstyp Wezlers. Arterienstücke, die ausgesprochen wie Typ c (Verkürzung) reagierten, zeigten keine Wandverfestigung, verstärkte Längenzunahme und ein Druck-Dehnungsdiagramm, das konkav zur Abszisse verlief, eine Annäherung an den Akkomodationstyp Reuterwalls. Da auch bei diesem Typ eine Kontraktion in der Arterienwand vorgelegen haben muß, läßt sich eine Verallgemeinerung des Kontraktionstyps nicht einführen. Auch hier ergibt sich ein Hinweis auf grundsätzliche strukturelle Verschiedenheiten gleicher Arterien. Bei den übrigen Stoffen wurde stets nach der Einwirkung ein normaler oder ein abszissenkonkaver Verlauf (Annäherung an die Akkomodation) gesehen, auch wenn die Gefäße vorher mit einer Verengerung reagiert hatten.

H. Dengler (Frankfurt a. M.): Über die pressorische Wirksamkeit von Arterienwandextrakten.

Ausgehend von Befunden Jimenez-Diaz, der ursprünglich die Teilnahme eines enzymartigen Stoffes aus Arterienwänden an der durch Reizung des zentralen Vagusstumpfes hervorgerufenen Blutdrucksteigerung forderte, später jedoch dem Nor-Adrenalin die vermittelnde Rolle zuschrieb, wurden Extrakte aus Arterienwänden untersucht.

Aus Arterien (größere periphere Gefäße und Bauchaorten) von Schweinen wurde Acetontrockenpulver dargestellt. Nach Extraktion mit verdünnten Salzlösungen und Säurefällung bei p_H 4,5 konnte mit Ammoniumsulfat die wirksame Substanz zwischen 0,3 und 0,6 Sättigung ausgefällt werden. Das Elektrophoresediagramm dieser Extrakte läßt 4 Fraktionen erkennen und zeichnet sich besonders durch einen hohen, in der Wanderungsgeschwindigkeit dem Serumalbumin entsprechenden Gipfel aus.

Bei Injektion solcher Arterienwandextrakte (AwE) in ein Ringer-durchströmtes Kaninchenohr tritt praktisch keine Durchströmungsänderung ein, am (Schweine-) plasma-durchströmten Präparat ruft

jedoch die gleiche AwE-Dosis eine starke und langanhaltende Vasoconstriction hervor. Die Nor-Adrenalin-Wirkung erfährt in der gleichen Anordnung keine wesentliche Änderung. Bei Verminderung des Plasmagehaltes der Durchströmungsflüssigkeit nimmt die mit einer bestimmten AwE-Dosis erreichbare Vasoconstriction ab. Erhitzt man den AwE 30 min auf 52° C, dann ist die gefäßverengernde Wirkung stark abgeschwächt, bei 5 min langem Erhitzen auf 100° C nur mehr angedeutet.

Demnach scheint in den AwE ein fermentartiger Stoff vorhanden zu sein, der im Zusammenwirken mit Plasma eine vasoconstrictorische Substanz entstehen läßt. In Bestätigung dieser Annahme läßt sich mit Inkubaten aus Plasma und AwE auch am RINGER-durchströmten Kaninchenohr eine Vasoconstriction erzielen. Ausmaß und Dauer der Durchströmungsverminderung sind jedoch, wohl entsprechend dem geringeren Substratangebot, kleiner als bei der Injektion von AwE in ein Plasma-durchströmtes Ohr.

Die genannten Inkubate wirken am isolierten Meerschweinchenileum und am isolierten Rattenuterus erregend.

Pressorische Wirkungen am Rattenblutdruck ließen sich nur mit wenigen Präparaten erzielen, selbst wenn diese am Kaninchenohr deutlich vasoconstrictorisch wirksam sind. In diesen Fällen führte die intravenöse Injektion des AwE zu erheblichen Blutdruckanstiegen, die durch ihre lange Dauer (max. 45 min) charakterisiert sind, so daß nach Verabfolgung äquipressorischer Dosen von Renin und AwE die Blutdrucksteigerung nach AwE länger anhält. Die pressorische Wirkung der Extrakte wird durch Erhitzen abgeschwächt, durch Inkubation mit Pepsin aufgehoben. Auch Inkubate von AwE und Plasma oder Serum führten in einigen Fällen, jedoch nicht regelmäßig, zu Blutdrucksteigerung. Der entstehende pressorische Stoff ist thermostabil.

In vergleichenden Versuchen mit Renin aus Schweinenieren ergaben sich charakteristische Unterschiede. Eine Renindosis, die am plasmadurchströmten Kaninchenohr schwächer wirkt als eine bestimmte AwE-Dosis, übertrifft diese am Rattenblutdruck an pressorischer Wirkung erheblich. Im Gegensatz zu der blutdrucksteigernden Wirkung des Renins läßt sich die der AwE durch Cocain nicht verstärken.

Im Zusammenhang mit diesem Befund, daß sich aus Arterienwänden ein reninartiger, wenn auch wahrscheinlich nicht mit Renin identischer Pressorstoff extrahieren läßt, wird darauf hingewiesen, daß in der Gefäßwand dieselben Zellelemente gefunden wurden wie im juxtaglomerulären Apparat der Niere, dem man die Reninbildung zuschreibt.

Diskussion. BÜHLER (Tübingen): Anfrage, ob 5-Hydroxytryptamin als Wirksubstanz der Arterienwandextrakte eine Rolle spielt.

Schlußwort. Dengler: In den beschriebenen Arterienextrakten ist die Anwesenheit von 5-Oxytryptamin unwahrscheinlich. Dies ist zu folgern aus: 1. der Art der Darstellung, 2. der fehlenden Wirksamkeit am Ringer-durchströmten Kaninchenohr.

W. Felix (München): Über den Einfluß des Carotissinus auf die Durchblutung der Extremität.

Es ist allgemein bekannt, daß der Carotissinus nicht nur den Kreislauf, sondern darüber hinaus eine ganze Reihe anderer Organe beeinflußt. E. Koch nannte diese Wirkung die Irradiation der pressoreceptorischen Kreislaufreflexe. Nach eigenen Versuchen über die Wirkung des Carotissinus auf die Muskelleistung scheint diese Irradiation in der Hemmung der Erregbarkeit der efferenten Bahnen zu bestehen, soweit sie energieverbrauchende Prozesse veranlassen. Man kann die Wirkung des Carotissinus auf den Kreislauf als einen Teil seiner allgemeinen Wirkung ansehen. Adrenalin fördert die energieverbrauchenden Prozesse, wirkt also entgegengesetzt wie eine Carotissinusreizung. Wenn man den hemmenden Einfluß des Carotissinus durch eine Druckentlastung vermindert oder ganz aufhebt, müßte — nach dieser Betrachtung — ein adrenalinähnlicher Effekt zu erwarten sein. Eine Drucksenkung im Carotissinus sollte demnach den contractilen Tonus der Extremitätengefäße herabsetzen. Dem widersprechen die Versuche vor allem von H. Rein, denen zufolge sich diese Gefäße gleichzeitig mit dem Anstieg des allgemeinen Blutdruckes stark verengern.

An Katzen in Chloralosenarkose wurde die Durchblutung der hinteren Extremität gemessen. Die Extremität wurde von einem Spendertiere durchblutet. In den Schlauchverbindungen (Spender—Empfänger) wurden der arterielle Zu- und der venöse Abfluß mit Thermistoren nach W. Felix und H. Groll registriert. In der A. femor, der normal versorgten Extremität wurden beim Spender der Blutdruck und beim Empfänger Blutdruck und -strom gemessen. Der endosinuale Druck wurde durch Abklemmen der beiden Carotiden gesenkt.

Bei Senkung des endosinualen Druckes fließt in der fremddurchbluteten Extremität anfangs vermehrt Blut. Die Durchflußmenge geht darauf bis unter die Ausgangslage zurück, nachdem der endosinuale Druck noch mehr gesunken ist und dadurch der allgemeine Blutdruck erhöht wurde. Da der Blutdruck des Spenders sich bei diesen Versuchen nicht verändert, muß es sich um Gefäßreaktionen handeln. Zunächst wird der contractile Tonus der Gefäße vermindert; die Gefäße werden weiter. Danach nimmt der Tonus wieder zu und die Gefäße werden enger. Beim gleichzeitigen Öffnen der beiden Carotiden steigt der endosinuale Druck schnell an, worauf der allgemeine Blutdruck ebenso rasch abfällt. Nach einem kurzen Rückgang nimmt die Durchflußmenge (der

fremddurchbluteten Extremität) bis über die Ausgangslage zu und kehrt dann wieder zu dieser zurück. Es ist unwahrscheinlich, daß die beiden entgegengesetzten Wirkungen durch den gleichen Mechanismus hervorgerufen werden. Da bei der Senkung des endosinualen Druckes der Gefäßtonus zuerst nachläßt, um dann stärker zu werden, darf man vielleicht daraus schließen, daß in dem primären Nachlassen des contractilen Tonus die eigentliche Wirkung des Carotissinus zu erblicken ist, während die sekundäre Zunahme des Tonus vielleicht eine Gegenregulation darstellt. Umgekehrt wäre dann bei der Erhöhung des endosinualen Druckes die primäre Zunahme des Gefäßtonus eine Wirkung des Carotissinus und die sekundäre Abnahme eine Gegenregulation. Je schneller der endosinuale Druck verändert wird, um so schwächer sind diese primären Wirkungen ausgeprägt, um so rascher setzt die Gegenregulation ein. Die beschriebenen Gefäßreaktionen beziehen sich nur auf den arteriellen Teil der Strombahn. Der venöse Teil scheint sich umgekehrt zu verhalten.

Die normal versorgte Extremität wird bei Senkung des endosinualen Druckes stets vermehrt durchströmt. Die sekundäre Zunahme des contractilen Tonus reicht nicht aus, um die Durchblutung gegen den erhöhten Allgemeindruck unter die Ausgangslage zu vermindern.

Es ist beabsichtigt, die Versuche noch einmal mit definierter Stärke der Carotissinusreizung zu wiederholen und die Ergebnisse zu überprüfen. Es soll dabei auch festgestellt werden, ob die beschriebenen primären Effekte nur bei geringen Druckveränderungen im Carotissinus auftreten.

Die Ergebnisse widersprechen besonders denjenigen von H. Rein. Sie lassen sich auch schlecht vereinbaren mit der allgemein anerkannten Auffassung vom Mechanismus der Selbstregulation des Kreislaufes. Vielleicht erscheinen sie jedoch weniger widerspruchsvoll, wenn man die Bedeutung des Carotissinus nicht allein auf seinen Einfluß auf den Kreislauf beschränkt, sondern diesen Einfluß nur als einen Teil der Wirkung des Carotissinus auf den Gesamtorganismus betrachtet.

Diskussion. Kalkoff (Halle): Die Versuche weisen darauf hin, daß man den Funktionszustand eines Gefäßgebietes aus den Änderungen der Durchblutungsgröße allein nicht beurteilen kann, wenn sich gleichzeitig mit den Durchblutungsänderungen auch der Druck verändert, wie es sonst bei einem nicht durch ein Spendertier versorgten Gefäßgebiet der Fall ist.

Barner-Brueckner konnten, indem bei der Auswertung der Durchblutungskurven die Druck-Stromvolumenbeziehung berücksichtigt wurde, beim Hunde stets eine Vasoconstriction nach Carotis-Entlastung und eine Dilatation nach maximaler Pressoreceptorenreizung nachweisen, unabhängig davon, ob die Durchblutung zu- oder abnahm. Rückwirkungen anderer Gefäßgebiete auf die Durchblutung der Art. femoralis während pressoreceptorischer Testversuche wurden ebenfalls beobachtet.

Krause (Hannover): Es wird auf Arbeiten von Heymans und Rein verwiesen, wonach die Auswirkungen einer Carotis-Sinus-Entlastung auf die Kreislaufperipherie recht verschiedenartig sein können. Besonders wesentlich erscheint der Einfluß der Narkose: Unter Morphin-Pernocton erhält man andere Ergebnisse als unter Chloralose.

Schlußwort. Felix zu Kalkoff: Die Extremität wurde von einem Spendertiere durchblutet, dessen Blutdruck sich nicht änderte. Daß der contractile Tonus der Extremitätengefäße tatsächlich nachläßt und die Extremitäten vermehrt durchströmt werden, zeigt auch die Rückwirkung auf den Systemdruck des Empfängers, welcher vorübergehend wenig absinkt.

Zu Krause: Der Nachweis des beschriebenen Effektes gelingt nur bei oberflächlicher Narkose. Nimmt die Narkosetiefe zu, so ist auch unter Chloralose der Effekt nicht mehr festzustellen.

P. Jungblut (Mainz): Die Wirkung von einmaligen intravenösen Adrenalin-Injektionen auf die Nierengefäße der Maus.

Änderungen des Tonuszustandes der Nierengefäße lassen sich mit Hilfe der Methode von Slominski und Cunge durch den Vergleich unterbundener und nicht unterbundener Nieren feststellen.

Die Wirkung einer einmaligen intravenösen Adrenalin-Injektion auf die Nierengefäße von nichtnarkotisierten männlichen Mäusen wurde mit folgender Methode untersucht:

74 Mäuse wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Adrenalin-Injektion gleichzeitig zwischen Zwerchfell und Nieren durchtrennt und dekapitiert. Bei 36 weiteren Tieren war nach Kuhlgatz 4—7 Tage vor dem Versuch eine Perlonschlinge um den linken Nierenstiel gelegt worden, die im Versuch unmittelbar vor dem Durchtrennen und Dekapitieren zugezogen wurde. Die nicht unterbundenen Nieren der Tiere beider Versuchsreihen zeigten die gleiche Blutverteilung.

Im Gegensatz zum Normalbild waren nach der i. v. Injektion von 1 γ Adrenalin/20 g Maus in 0,05 cm^3 0,9%iger NaCl-Lösung folgende Veränderungen im Füllungszustand der Gefäße zu beobachten: Von 10—35 sec nach der Injektion eine starke Füllung aller Gefäßbezirke in unterbundenen und nicht unterbundenen Nieren. Von 35 bis etwa 90 sec nach der Injektion waren in den unterbundenen Nieren die Glomerula relativ schlecht dargestellt, alle anderen Gefäße deutlich. Die Rinde von nicht unterbundenen Nieren im gleichen Zeitabschnitt war praktisch blutleer. Von 90 sec bis zu 3—5 min nach der Injektion zeigten die Rinden von unterbundenen und nicht unterbundenen Nieren eine Füllung der Arteriae interlobulares, der Vasa afferentia und der Glomerula, während die venösen Rindengefäße nicht dargestellt wurden.

3—5 min nach der Injektion erschien wieder eine normale Blutverteilung.

Von den drei beschriebenen Zustandsänderungen kann die zweite als eine Tonisierung der Rindengefäße, besonders des vas afferens, angesprochen werden. Die dritte stellt einen vas-efferens-Spasmus dar. Zur Erklärung der ersten kommen eine druckpassive Füllung, eine dilatatorische Wirkung kleiner Adrenalinmengen und eine nervös bedingte Gefäßerweiterung wie bei Muskelgefäßen in Frage.

Die verwendete Adrenalindosis steigert bei der Maus in Urethannarkose den Blutdruck um maximal 50 mm Hg bei einer Dauer von 45 bis 50 sec. Daran schließt sich eine Blutdrucksenkung von etwa 10 mm Hg an, die 60—90 sec dauert. Ein zeitlicher Zusammenhang zwischen Blutdruckwirksamkeit und Wirkung auf die Nierengefäße ist nicht unmittelbar gegeben. Betupft man bei einer Maus 3—4 Wochen vor der Adrenalin-Injektion einen Nierenstiel mit 10%iger $AgNO_3$-Lösung, so bleibt an der betreffenden Niere die starke Gefäßfüllung nach Adrenalin aus. Nach Betupfen der Aorta mit Silbernitratlösung bewirkt Adrenalin in beiden Nieren keine anfängliche starke Gefäßfüllung mehr. An Hand dieser Denervationsversuche läßt sich als Ursache der zeitlich ersten Adrenalinwirkung auf die Nierengefäße eine nervös bedingte Gefäßerweiterung vermuten.

Literatur.

Kuhlgatz, G.: Pflügers Arch. **256**, 1 (1952). — Slonimski, P., u. M. Cunge: Folia morphologica (Warszawa) **7**, 126 (1937); zit. nach Zbl. Neur. **87**, 561 (1938).

Diskussion. Unna (Chicago): Sind diese Ergebnisse gesichert durch Kontrollversuche, in denen eine äquivalente Blutdrucksteigerung auf anderem Wege als durch Adrenalin erzielt wurde?

Schlußwort. Jungblut: Durch die intravenöse Injektion entsprechender Noradrenalindosen lassen sich praktisch die gleichen Reaktionen der Nierengefäße erzielen wie nach Adrenalin. Vasopressin in Dosen von 1—100 mE/20 g Maus i.v. hat dagegen keine derartigen Gefäßreaktionen zur Folge. Das Ausbleiben der starken Gefäßfüllung 10—35 sec nach Adrenalin-Injektion an Nieren, deren Gefäßstiel mit Silbernitratlösung behandelt wurde („Denervation"), macht eine druckpassive Gefäßfüllung unwahrscheinlich. Daraus und aus dem fehlenden Unterschied in der Blutverteilung von unterbundenen und nicht unterbundenen Nieren im fraglichen Zeitabschnitt erscheint der Schluß auf eine durch Adrenalin (vermutlich über den Nervenweg) ausgelöste Gefäßerweiterung berechtigt.

M. v. Bubnoff und R. Taugner (Heidelberg): Wirkung von Phenothiazinen auf Gefäßspasmen der Niere bei Reizung des Plexus renalis.

Die Wirkung der Phenothiazinkörper Megaphen, Atosil, Padisal, Latibon und Pacatal sowie von Antistin und DHE auf Gefäßspasmen der Niere wurde untersucht. Die renalen Vasoconstrictionen wurden durch postganglionäre elektrische Reizung des Plexus renalis erzeugt, die Nierendurchblutung mit dem automatischen bubble-flow-meter

(Braun, Althoff u. Taugner) registriert. Megaphen führte bei Dosierung von 0,25—5,0 mg/kg zu einer vollständigen Unterdrückung der Reizeffekte, die über 50—120 min anhielt. Atosil und Padisal (5 bis 10 mg/kg) sowie Latibon (10—15 mg/kg), ebenso Pacatal (4 mg/kg) hatten nur eine sehr kurze Wirkungsdauer. Die Wirkung von Antistin erstreckte sich über 20—60 min. DHE (0,1—0,2 mg/kg) diente als Vergleichssubstanz und hatte etwa die gleiche Wirkungsdauer wie Megaphen. Die blutdrucksenkende Wirkung von Megaphen war im Vergleich zu seiner sympatholytischen Wirkungsstärke gering.

Bei einigen ergänzenden Versuchen an der Nickhaut dekapitierter Katzen unterschieden sich die zur Unterdrückung postganglionärer Reizeffekte erforderlichen Dosen der betreffenden Pharmaka nicht wesentlich von den bei der Plexusreizung wirksamen, mit Ausnahme von Megaphen, bei dem in einem Versuch sogar schon 0,05 mg/kg den Reizerfolg für 40 min unterdrückten. Die Adrenalin- und Nor-adrenalin-Kontraktionen der denervierten Nickhaut wurden bei entsprechender Dosierung stärker abgeschwächt als die post-ganglionär ausgelösten Reizerfolge.

Literatur.

Braun, W., K. H. Althoff u. R. Taugner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 529 (1954). Bubnoff, M. v., D. Hoffmann, E. Schmid u. R. Taugner: Arch. erper. Path. u. Pharmakol. (im Druck).

Diskussion. Brücke (Wien) fragt an, ob an dem geschilderten Präparat auch Lokalanaesthetica angewendet wurden.

Lüllmann (Mainz): Es wird angefragt, ob unter den genannten Substanzen die Erregbarkeit des Nervensystems im Nierenstiel abnimmt, denn das würde die gezeigten Effekte überlagern können.

Schlußwort. v. Bubnoff zu v. Brücke: Die Lokalanaesthetica haben in der erforderlichen Dosierung eine starke blutdrucksenkende Wirkung, wodurch ihre Prüfung sehr erschwert wird. In früheren Clearance-Versuchen von Eichholtz u. Mitarb.[1] mit Novocain konnte — offenbar wegen der depressorischen Wirkung — kein spasmolytischer Effekt nachgewiesen werden.

Zu Lüllmann: Elektrophysiologische Untersuchungen wurden von uns in diesem Zusammenhang nicht durchgeführt. Einflüsse der Phenothiazine auf die Erregbarkeit autonomer Nerven sind in unseren Dosierungsbereichen nicht bekannt. Die sympathischen Nervenendigungen reagieren mit Sicherheit auf wesentlich geringere Phenothiazin-Mengen.

A. Fleckenstein (Heidelberg): Physikalisch-chemische Charakteristika depolarisierender und depolarisations-hemmender Alkaloide.

An der Kollodium-Membran lassen sich die Adsorption von Alkaloid-Kationen und die Haftfestigkeit beim Auswaschen mit einem von

[1] Eichholtz, F., R. Taugner et W. Braun: Arch. internat. Pharmacodynamie **98**, 118 (1954).

Fleckenstein, Günther u. Winker ausgearbeiteten elektrischen Meßverfahren fortlaufend bestimmen. Schon die ersten Untersuchungen ergaben dabei, daß Alkaloid-Kationen mit vornehmlich erregenden, depolarisierenden Eigenschaften („Agonisten") im allgemeinen eine geringe Haftfestigkeit an den negativen Receptoren der Kollodium-Membran besitzen, während die erregungs-hemmenden, depolarisations-hemmenden Antagonisten dieser Substanzen meist viel fester adsorbiert werden. Diese Regel gilt für die Gruppe Histamin-Antihistaminica, Sympathomimetica-Sympatholytica, Parasympathomimetica-Parasympatholytica. Auch die meisten Alkaloidbasen, die den Frosch-Rectus durch Depolarisation zur Kontraktur bringen können (Parasympathomimetica, Nicotin, Coniin, Veratrin u. a.), gehören in die Gruppe der locker adsorbierten Verbindungen. Alle bisher geprüften, stärker kontrakturhemmenden, depolarisationshemmenden Antagonisten waren dagegen an der Kollodium-Membran schwer auswaschbar. Basische Farbstoffe, deren hohe Affinität zur Kollodium-Membran schon lange bekannt ist, können umgekehrt in vivo am Frosch-Rectus als Gegenspieler von Kontrakturstoffen fungieren.

Besonderes Interesse verdienen in diesem Zusammenhang Adsorptions-Messungen bei Anwendung von endplattenblockierenden, stickstoffhaltigen Basen: Nach Untersuchungen von Ginzel, Klupp u. Werner schlägt die depolarisierende Wirkung von Succinylbischolin, Adipinbischolin und Decamethonium in eine Hemmung der Depolarisation um, sobald man die Methylgruppen dieser Stoffe zunehmend durch Äthylreste substituiert. Die stärker äthylierten Produkte können dann als Antagonisten der Ausgangsstoffe wirken und z. B. die Kontraktur der Taubenmuskulatur oder des Frosch-Rectus, die normalerweise durch Decamethonium, Succinylbischolin oder Adipinbischolin verursacht wird, verhindern. Auch diese ganze Gruppe wurde an der Kollodium-Membran genau durchgemessen. Tatsächlich lösen sich auch hier die depolarisierenden Stoffe Succinylbischolin und Adipinbischolin sowie die beiden — ebenfalls noch depolarisierenden — Monoäthylderivate relativ schnell von der Kollodium-Membran los. Alle depolarisations-hemmenden, stärker äthylierten Derivate haften dagegen fester. Decamethonium steht hart an der Grenze zwischen beiden Gruppen. Die Wirkung der erregungshemmenden Antagonisten dürfte in den meisten Fällen auf einer adsorptiven Verdrängung der locker adsorbierten „Agonisten" beruhen. Die Messungen an der Kollodium-Membran zeigen,

a) daß beim Kampf zweier Alkaloid-Kationen um den gemeinsamen Receptor an der lebenden Membran im allgemeinen derjenige Stoff die Oberhand gewinnt, der auch schon an der toten Kollodium-Membran die stärkeren Adsorptions-Affinitäten erkennen läßt.

b) daß die Entscheidung, ob eine Alkaloidbase in erster Linie einen depolarisierenden oder einen depolarisations-hemmenden Wirkungscharakter besitzt, wahrscheinlich in erster Linie durch diese physikalisch-chemischen Faktoren bestimmt wird.

Diese Auffassung kann sich auf die Messung der Adsorption von über 100 Alkaloid-Kationen an der Kollodium-Membran stützen. Eine ausführliche Darstellung wird im Arch. exper. Path. u. Pharmakol. erfolgen.

Literatur.

Fleckenstein, A., H. Günther u. H. J. Winker: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 38 (1951). — Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 103 (1952).

Diskussion. Klupp (Biberach): Die bei Ersatz der Trimethylgruppen durch Äthylgruppen in den muskellähmenden Bischolinestern entstehenden Verbindungen zeigen an verschiedenen pharmakologischen Testobjekten sehr gute Ähnlichkeiten zu Curare. Zum Unterschied von d-Tubocurarin sind aber die Verbindungen nicht durch Eserin zu antagonisieren, so daß Zweifel an der tatsächlichen „Curare-Ähnlichkeit" der Wirkung entstehen. Durch die Befunde von Fleckenstein wird ein weiterer Hinweis für das curareartige Verhalten der Triäthylanaloge gegeben.

E. Habermann (Würzburg): Über Permeabilitätsänderungen durch tierische Gifte.

Gifte von Bienen und Schlangen erhöhen die Permeabilität zahlreicher biologischer Objekte. Am eingehendsten wurde bisher ihre hämolytische Wirkung untersucht; Houssay und Mitarbeiter wiesen außerdem in vitro und in vivo Wasser- und Ionenverschiebungen nach. Duran-Reynals beobachtete auch in tierischen Giften Spreading-Faktoren. Eigene Untersuchungen beschäftigen sich vor allem mit der Fraktion I = Melittin genannten Wirkkomponente von Bienengift und mit einem Wirkungsprodukt tierischer Gifte, dem Lysocithin.

Die durch Fraktion I durchlässig gewordene Erythrocytenmembran läßt zunächst Kalium und erst später Hämoglobin austreten. Die Differenz zwischen prozentualem Kaliumverlust und prozentualem Hämoglobinverlust nimmt von F I über Lysocithin zum Digitonin ab. Digitonin und Schlangengifte erzeugen nur geringen zusätzlichen Kaliumaustritt. An *intakte* Erythrocyten wird Fraktion I im Gegensatz zu Lysocithin und Digitonin nicht merklich adsorbiert, wie Versuche mit Variation der Erythrocytenkonzentration zeigten; dagegen wird sie durch gewaschene Stromata und auch durch andere Bestandteile osmotisch hämolysierter Erythrocyten inaktiviert. Dadurch wird verständlich, daß die F I-Hämolyse relativ schnell ihrem Endwert zustrebt. Sie hat ihn binnen 30 min bei 37° nahezu erreicht. Mit zunehmender Temperatur steigt das Ausmaß der

F I-Hämolyse, während das der durch Lysocithin oder Digitonin hervorgerufenen abnimmt. Am Hämolysemechanismus sind ferner osmotische Komponenten beteiligt. Während z. B. die Digitoninhämolyse durch Variation der Salzkonzentration nicht und die Lysocithinhämolyse nur wenig beeinflußt wird, läuft die F I-Hämolyse in hypotonen Lösungen viel weiter als in hypertonen. Nach Inkubation mit unterschwelligen Lysocithindosen ist die Resistenz einer Erythrocytensuspension gegen osmotische Einflüsse stark vermindert, bei Anwendung von F I oder von Digitonin dagegen nur wenig.

Die Hämolyse ist nur ein Sonderfall von Permeabilitätserhöhung. Am isolierten Froschgastrocnemius führt Bienengift ebenso wie die daraufhin untersuchten Schlangengifte und Lysocithin zu Wasseraufnahme und Kaliumabgabe. Wie bei der Hämolyse ist F I die eigentlich aktive Komponente, während Phospholipase A, Hyaluronidase und Histamin keine entscheidende Rolle spielen. Hämolytisches Vermögen und Kaliumfreisetzung aus Froschmuskeln gehen bei verschiedenen Agentien nicht parallel; z. B. ist das stark hämolysierende Lysocithin am Froschmuskel nur wenig, das hämolytisch kaum aktive Naia-Haie-Gift dagegen sehr stark wirksam.

Die Permeabilität der Haut wird durch Bienen- und Schlangengifte in doppelter Weise verändert. Die Erhöhung der Durchlässigkeit des Interstitiums erfolgt durch Hyaluronidase, während Phospholipase A, Lysocithin und F I keine Spreading-Faktoren sind. Umgekehrt werden die Capillaren im wesentlichen durch Fraktion I von Bienengift angegriffen, während Phospholipase A und Hyaluronidase keinen nennenswerten Effekt ausüben.

Lysocithin, welches wir im Verlauf unserer Versuche häufig als Vergleichssubstanz heranzogen, besitzt noch eine über eine einfache Permeabilitätserhöhung hinausgehende Wirkung: es vermag Zellmembranen (Erythrocytenschatten) aufzulösen, Zellkerne gegen mechanische Einflüsse empfindlich zu machen, Eigelbsuspensionen aufzuhellen sowie partikelgebundene Enzymsysteme, wie die zur oxydativen Phosphorylierung notwendigen oder Organthromboplastin, zu inaktivieren. Auch Suspensionen von Lecithin, Ölsäure und Cholesterin vermag es zu klären, z. T. in noch stärkerem Maße als die durch das Choleinsäureprinzip bekannt gewordene Desoxycholsäure. Diese Lösungsvermittler-Eigenschaften dürften allgemein-physiologisch interessant sein; denn falls der Organismus aus Lecithin eine Fettsäure abspaltet, so erhält er im Lysocithin ein Mittel, um die Löslichkeit und Resorbierbarkeit von lipoiden Substanzen zu erhöhen, Grenzflächen aufzulockern und sogar energieliefernde Fermentprozesse zu beeinflussen.

Unsere Untersuchungen zeigen einerseits, daß in tierischen Giften eine Reihe sehr verschiedenartig wirkender Permeabilitätsfaktoren (Frak-

tion I von Bienengift, Hyaluronidase, Phospholipase A, Histamin, unbekannter Faktor in Naia-Giften) vorliegen. Andererseits lassen sich diese Substanzen als Reagentien benutzen, um Unterschiede in Verhalten und Beschaffenheit der Grenzflächen sowie von verschiedenen Mechanismen, welche zur Permeabilitätsänderung führen können, näher zu klären.

J. Janke (Heidelberg): Über das Verhalten von ATP, ADP und anderen Phosphorsäure-Estern des Muskels bei Einwirkung depolarisierender Kontraktur-Stoffe.

Mit der von Fleckenstein u. Janke (1953) ausgearbeiteten papierchromatographischen Methodik gelingt es, Adenosintriphosphat (ATP), Adenosindiphosphat (ADP) sowie andere Phosphorsäure-Ester des Muskels noch in Bruchteilen eines Gammas genau zu erfassen. Vorausgegangene Studien am M. rectus abdomn. von Fröschen und Kröten ergaben dabei, daß sich der Gehalt an ATP und ADP im Zustand der Kontraktion gegenüber den Werten der ruhenden Kontrollmuskeln nicht verändert. Dies gilt nach den bisherigen Ergebnissen für die Kaliumkontraktur bei 0° C und bei 20° C, für die Starrekontraktur durch Coffein bei 0° C und für kurze tetanische Reizung bei 0° C und bei 20° C.

Diese Befunde wurden jetzt durch Prüfung einiger reversibel depolarisierender Kontrakturstoffe wie Acetylcholin, Nicotin, Succinylbischolin erweitert. Zur Anwendung kam jeweils für 60—90 sec eine Acetylcholin-Ringer-Lösung 1:10000, eine Nicotin-Ringer-Lösung 1:2500 bzw. eine Succinylbischolin-Ringer-Lösung 1:5000. Der eine M. rectus wurde dann jeweils auf dem Gipfel der Kontraktur in flüssigem Stickstoff eingefroren, der andere Muskel erstarrte im erschlafften Zustand. Schon die UV-Aufnahmen der Chromatogramme mit Hilfe des Photoprint-Verfahrens nach Markham u. Smith lassen erkennen, daß auch bei diesen Kontrakturen keine wesentlichen Verschiebungen der ATP und ADP-Werte eintreten. Dieser Eindruck wurde durch die Mikroanalysen des P-Gehaltes der ausgeschnittenen und feucht veraschten ATP- und ADP-Flecke in den Chromatogrammen bestätigt. Tatsächlich stimmen die Mittelwerte für ATP und ADP in den kontrahierten und erschlafften Muskeln praktisch überein. Dagegen nahmen Kreatinphosphat und zwei andere noch nicht identifizierte P-Ester während der Kontraktur regelmäßig ab.

Die Depolarisation und die Verkürzung des M. rectus entwickelt sich also bei der Acetylcholin-, Nicotin- und Succinylbischolin-Kontraktur ohne einen — an Konzentrationsänderungen erfaßbaren — ATP-Zerfall. Anhaltspunkte für die Existenz eines „Kontraktions-Cyclus" mit ATP-Spaltung bei der Kontraktion und ATP-Resynthese aus Kreatinphosphat bei der Wiederverlängerung ergeben sich demnach nicht. Depolarisation und Repolarisation gehen der Verkürzung und Wiederverlängerung des

Frosch-Rectus von allen bisher bekannten Reaktionen am engsten parallel. Die Untersuchungen werden im Archiv für exper. Path. u. Pharmakol. ausführlich publiziert.

Literatur.

Fleckenstein, A., u. J. Janke: Pflügers Arch. **258**, 177 (1953). — Fleckenstein, A., J. Janke u. M. Elke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **221**, 404 (1954). — Fleckenstein, A., J. Janke, G. Lechner u. G. Bauer: Pflügers Arch. **259**, 246 (1954). — Fleckenstein, A., J. Janke, R. E. Davies u. H. A. Krebs: Nature (London) **174**, 1081 (1954).

Diskussion. Lange (Mainz): Die beschriebene Kreatinphosphatabnahme während der Acetylcholinkontraktur von Froschrectusmuskeln wurde auch in eigenen Versuchen gefunden. Die Kreatinphosphatabnahme trat allerdings erst auf, wenn die Kontraktur länger als 5 sec dauerte. Bei Acetylcholinkontrakturen, die kürzer als 5 sec dauerten, wurden gegenüber unkontrahierten Kontrollmuskeln nur ATP-Abnahme und korrespondierende ADP-Zunahme beobachtet. Die ATP-Abnahme betrug 0,25 μMol/g/Kontraktion. Die bei den eigenen Versuchen verwandte Methode vermeidet das Fixieren der Muskeln durch Einfrieren in flüssiger Luft und die Verwendung saurer Extraktionsmittel. Die Auftrennung der Extrakte erfolgt durch Papierchromatographie mit vorgeschalteter Hochspannungspapier-Ionophorese. Zur Charakterisierung der einzelnen Fraktionen diente das Verhältnis P-Gehalt/Ribose-Gehalt: maximaler Absorption im UV. Die Menge der einzelnen Fraktionen ergibt sich aus der Extinktion bei maximaler Absorption im UV. Abgesehen von diesen methodischen Unterschieden sei auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die kleinen Differenzen von 0,25 μMol/g im ATP- und ADP-Gehalt bei der vorgetragenen Arbeit, bei der nur der 15. Teil des aus einem Rectusmuskel (mit etwa 0,2 g Gewicht) gewonnenen Extraktes analysiert wird, nicht in der Größe bzw. als meßbare Differenz im P-Gehalt der Substanzflecke im Chromatogramm zum Ausdruck kommen.

Fleckenstein (Heidelberg): Die von Fleckenstein u. Janke genau beschriebene Methode müßte einen ATP-Zerfall von 0,25 μMol/g Muskel und eine entsprechende ADP-Zunahme ohne jede Schwierigkeit erfassen. Eine solche Verschiebung tritt jedoch bei der Acetylcholinkontraktur (90 sec Einwirkung einer Acetylcholin-Ringer-Lösung 1:10000 bei 0° C) mit Sicherheit nicht ein. Bei Verwendung der dünnen und langsamen M. recti von weiblichen Temporarien und bei Kühlung auf 0° C erfolgt das Einfrieren der Kontrollmuskeln in flüssigem Stickstoff, ohne daß dabei eine Erregung bzw. Kontraktion eintritt. Das Problem dieser „Kälte-Kontraktur" ist von Fleckenstein, Janke, Lechner u. Bauer schon näher behandelt worden.

Kuschinsky (Mainz): Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die Behandlung der Muskeln mit flüssiger Luft jedesmal zu einer tetanischen Reaktion führt, die wie bei Kontrollmuskeln und Versuchsmuskeln unerwünschte chemische Veränderungen zur Folge hat.

Lüllmann (Mainz): Der Widerspruch in den Befunden von Janke (keine Verminderung von ATP, Abnahme von KP) und Lange (Abnahme von ATP, keine Verminderung von KP) ist durch experimentelle Unterschiede erklärbar. Während Janke den Kontraktionsprozeß erst 90 sec nach Beginn der Verkürzung unterbricht, stoppt Lange die Kontraktion bereits nach 3—5 sec. Das verschieden schnelle Einsetzen des ATP- und KP-Zerfalles (erst ATP!) und eine unterschied-

liche Rephosphorylierungsgeschwindigkeit (ATP schneller als KP!) lassen die Befunde widerspruchsfrei erscheinen.

Wollenberger (Berlin): Die Befunde der Rednerin und ihrer Mitarbeiter schließen nicht die Möglichkeit der Aufrechterhaltung der Aktomyosin-ATP-Theorie der Muskelkontraktion in modifizierter Form aus. Meyerhof und Kiessling isolierten aus Hefe ein äußerst labiles Adenindinucleotid, das sich im Gang der ATP-Analyse leicht spaltet. Meyerhof äußerte auch die Meinung, daß eine solche ähnliche Verbindung auch im Muskel existieren könne und vielleicht die wahre Schlüsselsubstanz für die Kontraktion darstelle. ATP wäre dann nur als ein Spaltprodukt anzusehen. Tatsächlich hat Gelotte vor kurzem eine Verbindung aus Muskelextrakt (Aktin) isoliert, welche Eigenschaften eines Dinucleotids aufweist, und Mommaerts u. Seraidarian glauben, eine Verbindung im Herzmuskel gefunden zu haben, die sich aus Adenin, Ribose, Phosphat und Glutamin oder Glutaminsäure zusammensetzt.

P. Stern, R. Košak, A. Misirlija, S. Huković (Sarajevo): Bedeutung der Darmflora für die Eisenresorption.

(Ein weiterer Beitrag zur Eisenresorption aus sterilem Darmkanal)

Neulich konnten wir zeigen, daß eine normale Darmflora für die Eisenresorption notwendig ist[3, 4]. Es zeigte sich, daß aus dem Darmkanal anämisierter Kaninchen, dessen gesamte Flora außer Proteus vulgaris mit Penicillin und Terramycin vernichtet wurde, das Eisen nicht resorbiert werden kann. Verabreicht man anämisierten Kaninchen mit sterilem Darmkanal gegen Terramycin resistente B. coli oder Enterokokken, so wird die Eisenresorption wieder hergestellt. Demnach ist also die Eisenresorption durch die Darmflora bedingt.

Während weiteren Untersuchungen dieser Erscheinung konnten wir zeigen, daß für die Eisenresorption das anämisierte Kaninchen mit sterilem Darmkanal eine lebende Flora benötigt. Wenn wir erwähnten, gegen Terramycin resistente Bakterien durch 15 min andauerndes Kochen töten, konnte keine Resorption mehr erfolgen. Wir konnten ebenfalls zeigen, daß die Bindungsfähigkeit des Eisens im Serum unverändert bleibt bzw. die Eigenschaft des Transferritins solcher Kaninchen sich nicht verändert hat. Wir arbeiteten nach der von Braunsteiner, Gisinger u. Pakesch[1] beschriebenen Methode.

Endlich interessierte uns, ob die Entfernung der Darmflora einen Einfluß auf die Bildung des Ferritins oder Apoferritins in der Darmschleimhaut ausübt. Ferritin und Apoferritin haben wir im Doudenum und Jejunum nach der Methode von Granick[2] bestimmt. Es zeigte sich, daß im sterilen Darmkanal anämisierter Kaninchen mehr Apoferritin als Ferritin vorhanden ist, dagegen bei nicht anämisierten mit sterilem Darmkanal mehr Ferritin als Apoferritin zu finden ist, das gegenseitige Verhältnis von Apoferritin und Ferritin sich also wie bei Tieren mit normaler Darmflora verhält. Nach Eisenzusatz ändert sich das Verhältnis zwischen

Ferritin und Apoferritin nicht, dagegen bei normalen anämisierten Kaninchen nach Eisenzusatz per os die Ferritinmenge steigt. Es scheint also, daß unter dem Einfluß lebender Bakterien das Eisen sich an Apoferritin bindet. Erst unter dem Einfluß einer gegen Terramycin resistenten Darmflora steigt die Ferritinmenge in der Darmschleimhaut.

Demnach ist also das Ausbleiben der Eisenresorption aus sterilem Darmkanal anämisierter Kaninchen nicht durch einen „Mucosa-Block" bedingt, da weniger Ferritin als Apoferritin vorhanden ist, sondern die Folge einer Unfähigkeit des Eisens sich an Apoferritin zu binden.

Literatur.

[1] Braunsteiner, H., E. Gisinger u. F. Pakesch: Klin. Wschr. **1952**, 394. — [2] Granick, S.: Chem. Rev. **38**, 379 (1946). — [3] Stern, P., R. Kosak u. A. Misirlija: Experientia (Basel) **10**, 227 (1954). — [4] Stern, P., R. Kosak u. A. Misirlija: Acta med. Jugoslav. **8**, 164 (1954).

J. Lindner (Leipzig): Zur Frage der Resorptionsverbesserung durch ätherische Öle.

Die meisten Untersuchungen zur Resorption ätherischer Öle durch die Haut betreffen vergleichende Bestimmungen dieser Stoffe oder ihrer Abbauprodukte *nach der Ausscheidung* (im Harn oder in der Exspirationsluft). Die auf verschiedene Stoffe in verschiedener Weise möglichen Einflüsse der Ausscheidung werden bei vergleichenden Bestimmungen gleichartiger spezifischer *Wirkung* ausgeschaltet. Wir wählten den Nachweis von Atropin am Rattenauge und verglichen Wirkungseintritt und -intensität von Base und Salz nach percutaner Applikation in ätherischem Öl oder Wasser. Dabei sind wir uns bewußt, daß Resorption eines Stoffes nicht qualitativ gleichwertig zu sein braucht mit der Resorptionsverbesserung einer anderen Substanz durch diesen Stoff. Bei gleicher Konzentration (m/200 Base, m/400 Sulfat) zeigte sich die Tatsache der Resorption des Alkaloids durch Verwendung ätherischen Öls als Menstruum gegenüber negativem Atropin-Nachweis bei wäßriger Lösung und ein signifikant schnellerer Wirkungseintritt von Atropin-Sulfat gegenüber der Base in Fenchelöl.

Allerdings sind in diesen Versuchen beim Nachweis der stattgefundenen Resorption noch Elimination (im Sinne möglicher Abbauvorgänge) und Wirkung als zusätzliche Größen eingeschlossen, weswegen wir uns außerdem zur Bestimmung im *Blut* entschlossen. Diese in unserem Institut begonnenen Untersuchungen mit einem aus methodischen Gründen anderen organischen Stoff (Sulfanilamid) bestätigten bisher die Resorptionsverbesserung durch ätherisches Öl und zeigten die Bedeutung der Wahl des Versuchstieres: Durch Kaninchenhaut wird besser resorbiert als durch Katzenhaut.

Um alle nicht dem eigentlichen Resorptionsvorgang zugehörigen Einflüsse auszuschließen, untersuchten wir in einer dritten Versuchsreihe mit histologischen Methoden den *Resorptionsort*. Daß nicht nur das Versuchstier, sondern auch der Applikationsort von entscheidender Bedeutung sein kann, zeigt der Vergleich je eines Schnittes von Rücken und Bauch des Meerschweinchens. Bei Maus, Ratte, Hund und Mensch sind die Verhältnisse gleichsinnig. — Als Modellversuch wählten wir Meerschweinchen-, Ratten- und Leichenhaut, über das obere offene Ende eines in der Hälfte geteilten Reagenzglases gespannt und in verschiedene Flüssigkeiten als äußeres Medium eingetaucht. Wir untersuchten hierbei den Einfluß hyper-, iso- und hypotonischer Kochsalzlösung, Alkohol verschiedener Konzentrationen, von ätherischem und fettem Öl, sowie verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen (p_H 3, 5, 7 und 9) auf die äußere (behaarte) und innere Hautseite, wobei Methylenblau dem inneren Medium zugesetzt wurde. Dabei zeigte sich ein Eindringen der blauen Farbe in die Haut von der behaarten Seite aus nur bei Verwendung isotonischer Kochsalzlösung. Den Durchtritt verschiedener einprozentiger Farbstofflösungen durch diese Hautmembran konnten wir in befriedigender Weise nie reproduzieren und sehen in kleinsten Hautdefekten die Ursache vorgetäuschter Farbstoffdurchtritte.

R. K. Richards (North Chicago, USA): Das Bisulfit-Phänomen.

Bei Toxicitätsbestimmungen von Epinephrinlösungen wurde beobachtet, daß die Giftigkeit handelsüblicher Lösungen erheblich größer war, als die von frisch aus Epinephrinpulver mit verdünnter Salzsäure bereiteten Präparaten. Es ließ sich feststellen, daß das als Reduktionsmittel zugesetzte Natriumbisulfit für die stärkere Giftigkeit der käuflichen Lösungen verantwortlich war. Bei intravenöser Injektion war kein Unterschied zwischen den beiden Bereitungsmethoden festzustellen. Dagegen wurde die DL 50 bei s.c. Injektion an der Maus durch Zusatz von 0,1% Natriumbisulfit auf 2,2 mg/kg gegenüber 4,8 mg/kg der bisulfitfreien Lösung erniedrigt. Am Kaninchen waren die Werte bei i.m. Injektion 0,67 mg/kg mit und 1,3 mg/kg ohne Bisulfitzusatz. Im allgemeinen besteht eine Proportionalität zwischen der Bisulfitkonzentration und der Erhöhung der Toxicität. Die intravenöse Toxitität wird aber nur asymptotisch erreicht.

Dieses „Bisulfitphänomen" ist auch in nicht toxischen Dosen nachweisbar. So kommt es am Tier durch Zusatz von Natriumbisulfit zu kleinen Dosen von Epinephrin zu einem stärkeren und schnelleren Anstieg des Blutzuckers als ohne das Bisulfit; am Menschen wurden ähnliche Beobachtungen am Blutdruck gemacht (Grossmann und Mitarbeiter). Nach gegenwärtigen Anschauungen beruht das „Bisulfitphänomen"

auf einem spezifischen Effekt auf das Capillarbett, durch den es zu einer starken Beschleunigung der Resorptionsgeschwindigkeit kommt. Infolgedessen geben nur solche Körper ein positives „Bisulfitphänomen", bei denen ein großer Unterschied zwischen der s.c. und i.m. wirksamen oder toxischen Dosis im Verhältnis zur intravenösen besteht und die schnell entgiftet oder ausgeschieden werden. Es wurde gefunden, daß zu diesen Stoffen u. a. auch das Procain gehört. Werden Gemische von Procain und Epinephrin mit und ohne Bisulfitzusatz verglichen, so zeigt sich, daß die handelsüblichen, bisulfithaltigen Präparate bei s.c. Injektionen etwa 3- bis 6mal toxischer sind, als ohne diesen Zusatz. Andere saure und reduzierende Substanzen, wie z. B. Ascorbinsäure oder Natriumhypophosphit in salzsaurer Lösung, zeigen nicht die toxicitätssteigernde Wirkung des Bisulfits.

Es wurde beobachtet, daß durch vorherige intravenöse Injektionen großer Dosen von Rutinlösungen (50—75 mg pro Ratte) es möglich war, die toxicitätserhöhende Wirkung des Bisulfits sehr erheblich herabzusetzen. Diese Beobachtung unterstützt weiterhin die Annahme eines capillaren Wirkungsortes des Bisulfits.

Diskussion. Jungblut (Mainz): Wie hoch waren die verwendeten Dosen von Rutin? Lag Rutin als Chalcon vor?

Schlußwort. Richards: Rutin muß in hohen Dosen i. v. vor dem Adrenalin gegeben werden, um das „Bisulfitphänomen" zu verhindern oder abzuschwächen. Rutin kann mit Methylglutamin in Lösung gebracht werden.

A. Wollenberger (Berlin): Blockierung der Wirkungen des Protoveratrins A auf den Gehirnstoffwechsel durch Cocain und verwandte Stoffe.

Wie an anderer Stelle (Biochemic. J.) berichtet wird, stimuliert Protoveratrin, welches ein Gemisch der Protoveratrine A und B darstellt, die Atmung und aerobe Glykolyse der Großhirnrinde des Meerschweinchens, während es die anaerobe Glykolyse unterdrückt. An Schnitten dieses Gewebes wurde nun festgestellt, daß Protoveratrin A hierbei stärker wirksam ist als Protoveratrin B. Die in den folgenden Versuchen verwendete Konzentration des Protoveratrins A war $2 \cdot 10^{-6}$ M/l Glukose-Ringer-Lösung. Sie bewirkte eine 50%ige Steigerung des O_2-Verbrauchs, eine Beschleunigung der aeroben Glykolyse um mehrere hundert Prozent und eine 80%ige Hemmung der anaeroben Glykolyse. Bei Zugabe von Glutaminsäure als zusätzlichem Substrat blieb die stimulierende Wirkung auf den aeroben Stoffwechsel aus. Relativ niedrige Konzentrationen von Cocain ($1—3 \cdot 10^{-4}$ m), die keinen Einfluß auf den Stoffwechsel unbehandelter Gehirnrindeschnitte hatten, unterbanden vollständig den

durch Protoveratrin A verursachten Anstieg der Atmung und der aeroben Glykolyse und verhinderten ebenfalls die Hemmung der anaeroben Glykolyse. Diese blockierende Wirkung wurde ebenfalls von anderen dem Cocain pharmakologisch oder chemisch nahestehenden Verbindungen wie Novocain, Atropin und Scopolamin ausgeübt. Dieser Befund ist von besonderem Interesse im Hinblick auf die Tatsache, daß der durch Veratrumalkaloide ausgelöste Bezold-Jarisch-Reflex gleichfalls durch Lokalanaesthetica (Fleckenstein und Mitarbeiter) und durch Atropin (Zipf) gehemmt wird. Luminal, Veronal, Kalypnon, Äthylurethan und Natriumbromid hatten keinen nennenswerten Einfluß auf die durch Protoveratrin A hervorgerufene Veränderung der Geschwindigkeit der Atmung und anaeroben Glykolyse, obwohl die verwendeten Konzentrationen (z. B. 10^{-3} m für Luminal) dicht an der unteren Grenze des Konzentrationsbereichs lagen, in welchem die normale Atmung von Gehirnrindeschnitten gehemmt ist. Damit konnte die Wirkung des Protoveratrins A auf den Energiestoffwechsel der isolierten Gehirnrinde von den gleichsinnigen Wirkungen der elektrischen Reizung und der Erhöhung der extracellulären Kaliumkonzentration differenziert werden. Denn die Wirkung der elektrischen Reizung wird, wie McIlwain festgestellt hat, sowohl von Cocain als auch von Luminal in den oben angegebenen Konzentrationen aufgehoben, während nur das letztere imstande ist, den Kaliumeffekt zu beeinflussen. Diese Beziehungen lassen in Zusammenhang mit früheren Befunden gewisse Rückschlüsse auf den möglichen Angriffspunkt des Protoveratrins A an der Kette der Vorgänge in der Nervenzelle zu, welche die Erregung mit dem Substratabbau verbindet. Hierbei ist insbesondere die Tatsache von Interesse, daß Protoveratrin und Cocain den Kaliumhaushalt von nervösem Gewebe in gegensätzlicher Weise beeinflussen.

W. Kunz und W. Schmid (Tübingen): Über Beziehungen zwischen Stoffwechselbeeinflussung und Wachstum beim Mäuse-Ascitestumor.

Am Ehrlichschen Mäuse-Ascitestumor wurde die Leistung von Atmung und Glykolyse bei der Bildung energiereicher Phosphatester differenziert. Dazu wurde an gewaschenen Zellen des frischen Punktates Sauerstoffverbrauch und Milchsäurebildung mit der Warburg-Methode, der Schwund von anorganischem Phosphat auf chemischem Weg und der Umsatz von Adenosinphosphorsäuren und Hexosephosphatestern mit Hilfe der Papierchromatographie quantitativ bestimmt. Es fand sich folgendes:

1. In glukosehaltiger Ringer-Lösung verschwindet, auch ohne Zusatz von NaF, aerob und anaerob anorganisches Phosphat; es erscheint praktisch quantitativ als ATP. Entgegen der rechnerischen Erwartung sind

Phosphatschwund und ATP-Aufbau in der Aerobiose nicht größer als in der Anaerobiose.

2. Milchsäure sowie andere Carbonsäuren des intermediären Kohlenhydratabbaus vermögen die Atmung zwar eine Zeit lang (etwa 1 Std) in der gleichen Höhe wie Glukose zu unterhalten, darnach sistiert aber der Sauerstoffverbrauch, obwohl nach der chemischen Bestimmung noch genügend Substrat in der Nährlösung vorhanden ist. Während dieser Atmung wird im Gegensatz zu anderen Zellarten, wie der Muskelzelle, fortlaufend anorganisches Phosphat frei und ATP abgebaut. Die Atmung sistiert, wenn alles ATP verschwunden ist.

3. Durch Malonsäure wird die Atmung nur unwesentlich gehemmt. Es ist deshalb anzunehmen, daß der Dicarbonsäurecyclus bei der Ascitestumorzelle keine große Rolle spielt, sondern daß der Wasserstoff von den Codehydrasen direkt zum Flavin-Cytochromsystem geleitet wird.

4. Frisch punktierte und in vitro anaerob gehaltene Ascitestumorzellen enthalten Hexose-6-phosphat und Triosephosphate. Diese verschwinden aerob, besonders rasch bei Glukoseabwesenheit, ohne daß Milchsäure gebildet wird. Da hierbei die Atmung durch NaF und Jodacetat nicht gehemmt wird, liegt die Vermutung nahe, daß der aerobe Abbau von Glukose-6-phosphat über die Glukonsäureoxydation nach Warburg geht.

Die Wirkung von H-Akzeptoren. Methylenblau steigert im Konzentrationsbereich von 1—3 · 10^{-5} den Sauerstoffverbrauch um das 2- bis 3-fache, ohne die Glykolyse zu beeinflussen. Auch andere H-Akzeptoren, deren r^H positiver ist als das der Codehydrase I, steigern den Sauerstoffverbrauch und zwar um so mehr, je näher ihr r^H dem der Cytochrome liegt. Unter Glukose bringt diese Mehratmung *keine* ATP-Vermehrung mit sich; unter Milchsäure wird der ATP-Abbau unter Freisetzung von anorganischem Phosphat beschleunigt. Die Atmung wird also durch H-Akzeptoren nicht normalisiert.

In vitro wird bei Fehlen von Glukose die Überlebenszeit der Zellen durch Methylenblau (10^{-5}) stark verkürzt, bei Glukoseanwesenheit bleibt sie völlig unbeeinflußt. So ist es erklärlich, daß beim Tumorwachstumsversuch am Ganztier keinerlei Hemmung (sbc. und i.p. Injektion) beobachtet wird.

Glykolysehemmende Konzentrationen dieser Stoffe (z. B. Pyocyanin) verkürzen dagegen auch unter Glukose die Überlebenszeit beträchtlich, und zwar infolge Verminderung des ATP-Aufbaus. Erste orientierende Versuche mit glykolysehemmenden Substanzen zeigten, daß auch am Ganztier dieser Wirkungsmechanismus das Tumorwachstum zu hemmen vermag.

M. Siess (Tübingen): Energielieferung und Muskelfunktion bei Stoffwechselgiften.

Frühere Untersuchungen hatte die Bedeutung des Kohlenhydratstoffwechsels für Überleben wie für Funktion isolierter Muskeln gezeigt. In Fortführung dieser Versuche sollte durch gleichzeitige Bestimmung des Gehaltes an Kalium und Adenosinphosphaten in direkt gereizten Zwerchfellen von Mäusen und Ratten ihr Verhalten bei Einwirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel und bei kontrakturerzeugenden Agentien geprüft werden.

Die eine Zwerchfellhälfte diente jeweils als Kontrolle, die andere Hälfte wurde am Ende des Versuches sofort in eisgekühlter Trichloressigsäure (5%) extrahiert. Vorherige Gefriertrocknung ergab keine anderen Befunde. Bestimmung von Kalium nach Rosanow u. Kasarinowa, der Adenosinphosphate mittels Papierchromatographie (aufsteigende Anordnung, Ameisensäure-Acetongemisch [35% 40,0:60,0], 16 Std, Schleicher-Schüll Nr. 2043/B). Lokalisation mittels Photoprint (260 mμ) oder P-Reaktion. Eluieren der Flecken in n-HCl, 24 Std und P-Bestimmung nach Hydrolyse.

Glucosemangel führt zu diastolischem Stillstand. Zu diesem Zeitpunkt sind die Adenosinphosphate ebenso wie Glykogen völlig verschwunden. Das Zellkalium zeigt dagegen kein einheitliches Bild. Neben Verlusten über 70% des Anfangsbestandes finden sich unveränderte normale Kaliumwerte (normaler Mittelwert $0{,}3 \pm 0{,}07\%$). Bemerkenswerterweise kann man auch an nicht gereizten Zwerchfellen eine Abnahme des Kaliumgehaltes zwischen 30 und 50% sehen. Der Muskel ist dabei noch kontraktionsfähig, wenn sein ATP-Gehalt erhalten bleibt. Durch Glucosemangel stillgestellte, ATP- und ADP-freie Muskeln zeigen nach Erstickung oder Vergiftung mit Monojodacetat, Senföl oder Coffein Kontrakturen. Zerfall von ATP und ADP kann also nicht als Ursache dieser Kontrakturen angesehen werden. Während der Kontraktur wird eine vermehrte Abgabe von Kalium beobachtet. Diese kann bei rascher Kontraktur (Maus) durch Novocainvorgabe verhindert werden. Da die Kontraktur unbeeinflußt bleibt, kann auch eine Kaliumverschiebung nicht ihre Ursache sein. Bei langsamer Kontraktur (Ratte) verhindert auch Novocain (10^{-2}) den Kaliumaustritt auf die Dauer nicht. Hier erfolgt der Kaliumaustritt offensichtlich zu einem Zeitpunkt, in dem der eingetretene Zelltod auch durch Myolyse sichtbar wird.

Die Wirkungen von Cyanid, Monojodacetat, Natriumfluorid und Senföl auf den kontraktionsfähigen Muskel zeigen sich zuerst in der Abnahme der Kontraktionsamplituden. Dieser geht parallel der Zerfall von ATP und ADP und die Anhäufung von AMP. Dabei braucht es bis zum diastolischen Stillstand zunächst noch zu keinem Kaliumverlust zu kommen.

Es läßt sich auch auf diese Weise zeigen, daß die später eintretende Kontraktur am bereits ATP-freien Muskel erfolgt. Bei Monojodacetat, Natriumfluorid und Senföl beginnt die Wirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel in niederer Konzentration (MJA m/5000, NaF m/500), die kontrakturerzeugende Konzentration liegt höher (MJA m/2500, NaF m/100). Auch die Kontraktur nach Coffein, die mit einem vermehrten ATP- und ADP-Zerfall einhergeht, läßt sich nach Erschöpfungsstillstand hervorrufen. Der Kaliumaustritt läßt sich auch hier durch Novocain verhindern.

Hemmung des Kohlenhydratstoffwechsels durch Glucosemangel, Blockierung der Glykolyse oder Atmung durch Fermentgifte führen zur Abnahme der Kontraktionsfähigkeit; solche Muskeln besitzen beim diastolischen Stillstand kein ATP und ADP mehr. Die Veränderungen des Kaliumgehaltes zeigen wesentlich weniger Beziehungen zur Kontraktionsfähigkeit und Kontraktur. Das Kalium schwindet mit eintretendem Zelltod, unabhängig, ob eine Kontraktur eintritt oder nicht. Die Kontraktur nach Erstickung, Monojodacetat, Senföl und Coffein hat ihren Angriffspunkt wahrscheinlich direkt am Muskeleiweiß. Sie entsteht sicher nicht durch Zerfall von ATP oder Kaliumabgabe.

Diskussion. Fleckenstein (Heidelberg): Es wird die Auffassung vertreten, daß es nicht möglich ist, aus den vorgelegten Kalium-Analysen des Muskelgewebes verläßliche Schlüsse über das Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein eines K^+-Austritts in den Extracellulärraum bei Kontrakturen zu ziehen. Da der intracelluläre K^+-Gehalt von Zwerchfell zu Zwerchfell schwankt und auch nicht alle Teile der Zwerchfell-Muskulatur den gleichen K^+-Gehalt haben, erscheint es zweckmäßiger, bei solchen Fragestellungen die tatsächlich abgegebenen Kaliummengen in der extracellulären Flüssigkeit zu bestimmen (vgl. Hardt u. Fleckenstein, Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 39 (1949). Besonders zuverlässige Schlüsse ergeben sich aus Versuchen, in denen man die Muskeln vorher mit radioaktivem K^+ belädt und dann die Abgabe des radioaktiven K^+ in den Extracellulärraum verfolgt.

Schmid (Tübingen): Durch die Versuche von Siess sollte wieder einmal gezeigt werden, daß Muskelkontraktion und Muskelkontraktur zwei grundsätzlich verschiedene Vorgänge sind. Es ist daher nicht möglich, eine Kontraktur irgendwelcher Art als Modell für die Kontraktion zu benutzen. Bei allen Berechnungen der Kontraktionsenergie muß berücksichtigt werden, daß Kaltblüter- und Warmblütermuskel wesentliche Unterschiede aufweisen, die besonders in der Anaerobiose hervortreten. Am Beispiel des Herzmuskels läßt sich zeigen, daß das Froschherz nach Straub und der isolierte Vorhof des Frosches anaerob mit voller Amplitude stundenlang zu schlagen vermögen, während der isolierte Warmblütervorhof in der Anaerobiose sofort stillsteht. Das glykogenfrei gemachte stillstehende Froschherz beginnt anaerob nach Zusatz von Brenztraubensäure und Methylenblau wieder zu schlagen, beim Warmblütervorhof ist dies nicht der Fall.

Taugner (Heidelberg): Es wird angefragt, ob die geschilderten Veränderungen im ATP-, ADP-, AMP- und K-Gehalt in allen Teilen des Zwerchfells gleichmäßig vor sich gehen bzw. ob der elektrische Reiz für alle Muskelfasern überschwellig war.

Lange (Mainz): Die Versuche zeigen die hohe Empfindlichkeit des ATP-Gehalts von Rattenzwerchfellen gegenüber Glykolysehemmstoffen. Gleichsinnige Veränderungen des ATP-Gehalts durch Glykolysegifte wurden in eigenen Versuchen an Zwerchfellen und bei glatten Muskeln (Kaninchenmagen) gefunden. Allerdings entsprach der ATP-Abnahme immer eine Zunahme von ADP und AMP. Glatte Muskeln haben gegenüber quergestreiften Muskeln einen geringeren Kreatinphosphatgehalt, aber auch der Kreatinphosphatgehalt des Zwerchfells ist weniger als halb so groß wie der der übrigen Skeletmuskeln. Im Herzmuskel ist schließlich kaum noch Kreatinphosphat nachweisbar. Es hat also den Anschein, als ob Muskeln, die Dauerleistungen zu vollbringen haben, ihren ATP-Gehalt weniger auf dem Wege über Kreatinphosphat, als direkt durch die anaerobe Glykolyse decken.

Schlußwort. Siess: Zur methodischen Bemerkung von Herrn Prof. Fleckenstein über die Fehlerbreite der Kaliumbestimmung möchte ich noch einmal darauf hinweisen, daß der Kaliumgehalt zwischen linker und rechter Zwerchfellhälfte sofort nach Tötung des Tieres nur Unterschiede bis zu 5% zeigt. Der Kaliumgehalt von Tier zu Tier schwankt dagegen beträchtlich, wie gezeigt in den Grenzen einer Gaussschen Verteilung. Wir sehen daher in der Bestimmung des Kaliumverlustes durch Messung im Muskel einen wesentlichen Vorteil gegenüber der alleinigen Kaliumbestimmung in der Außenlösung.

Zu Herrn Lange: Auch wir sehen sehr deutliche Verschiebungen von ATP zu ADP und AMP nach Blockierung der Glykolyse oder der Atmung. Offenbar geht aber der weitere Abbau bzw. der Austritt von AMP aus der toten Zelle sehr rasch vor sich, so daß wir zu einem späteren Zeitpunkt adenosinphosphatfreie Muskeln finden.

Zu Herrn Taugner: Wir hielten die Reizstärke wie in unseren früheren Versuchen etwa 25% unterhalb der Maximalamplitude. Nach Serienschnitten waren nie einzelne Zwerchfellabschnitte besonders für Myolyse bzw. Glykogenverlust disponiert. Es sterben allerdings nicht alle Zellen bei Eingriffen gleichzeitig ab, wie auch im Glucosemangelversuch der Glykogenverlust im ganzen Zwerchfell in der einen Zelle früher, in der anderen später eintritt.

W. Eger (Göttingen): Der Einfluß des Butazolidins auf die Schilddrüse.

Mit 1 Textabbildung.

Bei Untersuchungen über die Wirkung subletaler Dosen von Butazolidin auf die Organe von Ratten richtete ich das Augenmerk auf das Verhalten innersekretorischer Drüsen. Während an den Nebennieren nur uncharakteristische und geringe Befunde zu erheben sind, zeigt die Schilddrüse regelmäßige eindeutige Veränderungen im Sinne einer Aktivitätssteigerung.

Dieser Befund veranlaßte mich, der Erscheinung in zwei Versuchsreihen nachzugehen. In der ersten sollte die Wirkung kurzdauernder Vergiftungen und die Schnelligkeit der Reaktion der Schilddrüse erfaßt, in der zweiten mit chronischen Versuchen das Verhalten der Schilddrüse studiert werden. Ratten von etwa 100 g erhielten zweimal täglich 100 mg/kg Körpergewicht Butazolidin injiziert. Je 2 Tiere wurden täglich bis zum 8. Versuchstag getötet, ihre Schilddrüsen gewogen und

histologisch aufgearbeitet. Zur Beurteilung ihres funktionellen Verhaltens bestimmte ich die Größe von je 200 Kernen und die Epithelhöhe.

An den Kernverteilungskurven zeigte sich schon einen Tag nach der ersten Injektion eine statistisch signifikante Rechtsverschiebung, also Zunahme der Kerngröße als Ausdruck gesteigerter Aktivität, die in den nächsten Tagen wieder etwas zurückgeht, am 7. und 8. Tag sich aber um so mehr ausprägt. Die Epithelhöhe, die ich auf dem beigegebenen Schema (s. Abb. 1) mit der durchschnittlichen Kerngröße in Parallele setze, verhält sich ähnlich, während aus dem Schilddrüsengewicht keine Veränderung abzulesen ist. Dafür ist wohl die Versuchsdauer nicht lange genug.

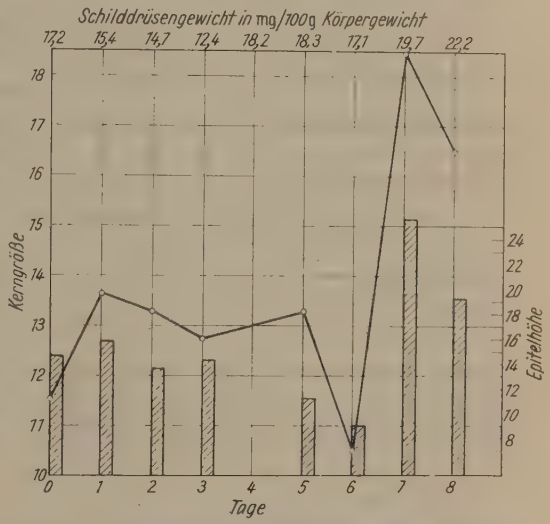


Abb. 1. Durchschnittliche Kerngröße (ausgezogene Linie) im Kurzversuch mit signifikanter Zunahme nach dem 1. Tag, Abfall bis zum 6. Tag und erheblicher Zunahme am 7. und 8. Tag. Paralleles Verhalten der Epithelhöhe (als Balken gezeichnet). Gesamtgewicht der Schilddrüse ohne charakteristischen Befund.

Es läßt sich also eine Aktivitätssteigerung der Schilddrüse schon nach einer einmaligen Injektion einer subletalen Butazolidindosis nachweisen. Die Wirkung fällt in den nächsten Tagen wieder etwas ab, um sich dann um so stärker bemerkbar zu machen.

Der letztere Befund ist auch bei der zweiten Versuchsreihe zu erheben, wo ich die Tiere mit möglichst hohen Dosen Butazolidin, das dem Trinkwasser beigegeben wurde, fütterte. Sie nahmen täglich etwa 300 bis 400 mg/kg und mehr, also das Zweifache der akut-letalen Dosis auf. Bei diesen chronischen Vergiftungen bestimmte ich, abgesehen von der histologischen Untersuchung des Organs, lediglich das Schilddrüsengewicht.

Es findet sich in den ersten Tagen noch keine Zunahme, eher eine leichte Abnahme, von normal etwa 15 mg/100 g KG auf 10 mg/100 g KG, und dann erst eine Gewichtssteigerung, die nach etwa 4 Wochen das Doppelte, nach 8 Wochen das 3—4fache, nach 10 Wochen in einem Falle sogar das 7fache (114 mg/100 KG) des Normalgewichtes ausmacht.

Das morphologische Bild der Schilddrüse allein sagt nichts darüber aus, ob es sich um eine Funktionssteigerung im Sinne einer Hyperthyreoidose oder um einen Kompensationsversuch der Drüse handelt, ein Defizit an Thyroxin auszugleichen. Beide Vorgänge sind zu erwägen. Für

eine echte Hyperthyreose spricht nicht das Verhalten der Tiere. Es findet sich weder ein rasch einsetzender Gewichtsverlust, noch eine erhöhte Nahrungsaufnahme infolge einer Steigerung des Stoffwechsels. Green und Mitarbeiter berichten über Versuche mit radioaktivem Jod, daß durch Butazolidin die Jodaufnahme in die Schilddrüse gehemmt wird. Zusammen mit diesen Beobachtungen ist anzunehmen, daß der Schilddrüse unter der Butazolidineinwirkung Jod nicht in ausreichendem Maße zur Bildung des Thyroxin zur Verfügung steht oder die Jodverarbeitung und Thyroxinsynthese gestört ist. Die Schilddrüse kann nicht genügend Thyroxin produzieren. Es läuft demnach derselbe Mechanismus ab, wie er von der Wirkung des Methylthiouracil bekannt ist. Das histologische Bild der Hypophyse bestätigt diese Annahme.

Es findet sich eine Degranulierung und zahlenmäßige Abnahme der α-chromophilen Zellen und eine Vermehrung der basophilen, zentral gelegenen Zellelemente der Hypophyse. Als besonderes Charakteristikum zeigen die letzteren Zellen Zeichen der Hypersekretion, Vergrößerung der Kerne und des Protoplasmaleibes, Sekretvacuolen und schließlich vacuolige Entartung. Es bilden sich die sog. Thyreoidektomiezellen als Zeichen der Erschöpfung, wie sie nach Entfernung der Schilddrüse, aber auch unter der Einwirkung von MTU auftreten.

Man kann wohl an Hand dieser Unterlagen mit Recht sagen, daß dem Butazolidin eine ähnliche Wirkung auf die Schilddrüse zukommt, wie dem MTU. Diese Auffassung und Befunde wurden inzwischen von Kleinsorg u. Krüskemper mit Stoffwechseluntersuchungen an Ratten weitgehend untermauert.

Literatur.

Green, Th. W., W. E. White, E. P. Engelmann and M. A. Krupp: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **82**, 155 (1953). — Kleinsorg, H., et H. L. Krüskemper: Arch. internat. Pharmacodynamie (im Erscheinen).

Diskussion. Kleinsorg (Göttingen): An Ratten erzeugt die Verabfolgung von Butazolidin nach gemeinsam mit Krüskemper durchgeführten Untersuchungen eine Hypothyreose. Inzwischen sind auch klinische Beobachtungen eines Myxödems nach Butazolidintherapie bekannt geworden.

Schlußwort. Eger: Die Frage der praktischen Bedeutung dieser Butazolidinwirkung wird dadurch unterstrichen, daß in der Heilmeyerschen Klinik in Freiburg Nebenerscheinungen des Butazolidins durch Gaben von Thyroxin gebessert werden konnten.

H. Kleinsorg und H.-L. Krüskemper (Göttingen): Einfluß von Kaliumperchlorat auf Schilddrüse und Stoffwechsel.

Die bisherigen experimentellen Untersuchungen über das Perchloration haben sich in der überwiegenden Mehrzahl mit seinen toxikologischen Wirkungen beschäftigt. Erst Untersuchungen von Stanbury u. Wyn-

GAARDEN, die die Radiojodspeicherung in der Schilddrüse bei Anwendung verschiedener Anionen besonders durch das Perchloration hemmen konnten, haben die Aufmerksamkeit auf die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Perchloration gelenkt. Die vorliegenden Untersuchungen haben sich um eine nähere Aufklärung dieser Beziehungen bemüht.

Der Gewebsstoffwechsel (Q_{O_2}) der Leber von Albinoratten wird bei länger dauernder peroraler Zufuhr von Kaliumperchlorat gesenkt; das Ausmaß der Senkung beträgt nach 14tägiger Gabe von 100 mg/kg/Tag etwa 11%, nach 28 Tagen etwa 20%. 250 mg/kg/Tag $KClO_4$ bewirkten nach 14 Tagen eine Abnahme des Sauerstoffverbrauchs der Leber um etwa 27%. Während der Dauer der Verabfolgung von Kaliumperchlorat ließ die Spontaneität der Versuchstiere geringgradig nach. Kaliumperchlorat führte bei Anwendung der eben genannten Dosierungen zu keinerlei toxischen Nebenerscheinungen; auch die von anderen antithyreoidalen Mitteln her bekannten Wirkungen auf das weiße Blutbild blieben aus, wie auch das rote Blutbild nicht verändert wurde. Der Gewichtszuwachs von Versuchs- und Kontrolltieren war während der Versuchszeit von gleichem Ausmaß. Der beschriebene Effekt auf den Gewebsstoffwechsel ist nach Beendigung einer 28tägigen Applikation von Kaliumperchlorat reversibel.

Wie Untersuchungen in vitro ergeben haben, ist die Senkung des Sauerstoffverbrauchs der Leber nicht an eine direkte Wirkung des Kaliumperchlorats gebunden: Kaliumperchlorat beeinflußte in vitro in Konzentrationen zwischen $5 \cdot 10^{-6}$ m und $5 \cdot 10^{-3}$ m die Gewebsatmung der Leber nicht. Auch ein peripherer Antagonismus zwischen Thyroxin und Kaliumperchlorat besteht nicht, da parenterale Gaben von Thyroxin in hoher Dosierung von einer Stoffwechselsteigerung etwa gleicher Stärke gefolgt war, gleichgültig, ob gleichzeitig Kaliumperchlorat verabfolgt wurde oder nicht. Auch die durch Thyroxin hervorgerufene Abnahme des Körpergewichts wurde durch Kaliumperchlorat nicht beeinflußt.

Die Ergebnisse hinsichtlich der Stoffwechselwirkung des $KClO_4$ und die Befunde von STANBURY u. WYNGAARDEN hinsichtlich der Verminderung der Speicherung von J^{131} in der Schilddrüse durch das Perchloration werden durch Untersuchungen an hypophysektomierten Ratten einer Erklärung näher gebracht. Während an hypophysenlosen Tieren die parenterale Applikation von thyreotropem Hormon zu der bekannten Steigerung des Stoffwechsels führte, blieb dieser Effekt aus, wenn gleichzeitig Kaliumperchlorat gegeben wurde. Dieser und die eben erwähnten Befunde berechtigen zu der Annahme, daß die Zufuhr von Kaliumperchlorat die Thyroxinsynthese über eine Hemmung der Jodspeicherung in der Schilddrüse senkt.

Damit werden auch Veränderungen verständlich, die Schilddrüsengewicht und -morphologie betreffen. Nach der Zufuhr von Kaliumper-

chlorat nahm das Gewicht der Schilddrüse normaler Ratten mehr oder weniger stark zu, während gleichzeitig histologisch das Bild einer hochaktiven Schilddrüse mit Epithelerhöhung und Kolloidschwund in den Follikeln bestand. Ebenfalls kommt es in der Hypophyse zu morphologischen Veränderungen, die denen nach einer Thyreoidektomie entsprechen. Eine weitere Stütze des soeben diskutierten Wirkungsmechanismus läßt sich aus den Versuchen ableiten, in denen parenteral Thyroxin gegeben wurde. Das Gewicht der Schilddrüse und die Histologie dieses Organs werden durch Thyroxin in bekannter Weise beeinflußt, unabhängig davon, ob gleichzeitig Kaliumperchlorat verabfolgt wurde oder nicht.

Am hypophysektomierten Tier blieb nach der alleinigen Gabe von Kaliumperchlorat ein Anstieg des Schilddrüsengewichts aus. Es erscheint jedoch bemerkenswert, daß $KClO_4$ auch hier noch eine gewisse histologische Aktivierung der Schilddrüse — erkennbar an einer Erhöhung des Epithels und einer Vergrößerung der Kerne — bewirkte.

Es lag nahe, die therapeutische Anwendung des Kaliumperchlorats als antithyreoidale Substanz klinisch bei Hyperthyreosen zu versuchen. Unsere bisher vorliegenden Erfahrungen haben die Möglichkeit einer solchen Therapie bestätigen können. In bisher 15 Fällen, in denen Kaliumperchlorat bei Hyperthyreosen mit einer Grundumsatzerhöhung von über 50% gegeben wurde, wurde in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Godley u. Stanbury sowie von Morgans u. Trotter ein guter Effekt erzielt. Unverträglichkeitserscheinungen oder toxische Nebenwirkungen — besonders auf das weiße Blutbild — wurden dabei nicht beobachtet.

H. Giertz (Düsseldorf): Zur Aktivierung der Noradrenalin- und Adrenalinhyperglykämie durch Methyldonatoren.

Die Blutzuckerwirkung des Nor-Adrenalins am Kaninchen und seine mydriatische Wirkung an der denervierten Mäusepupille lassen sich durch Methyldonatoren erheblich steigern. Es lag nahe, diesen Effekt als Ausdruck einer Neubildung von Adrenalin anzusehen, das den Blutzucker des Kaninchens und die denervierte Mäusepupille erheblich stärker als Nor-Adrenalin beeinflußt. Diese Annahme schien durch den Befund gestützt, daß das methylierungsfördernde Adenosintriphosphat die Wirkung der Kombination Nor-Adrenalin—Methyldonator weiterhin verstärkt.

Der schwerstwiegende Einwand, der von Holtz und Mitarbeitern gegen diese Auffassung vorgebracht wurde, bestand darin, daß auch die Adrenalinhyperglykämie und -mydriasis durch Methyldonatoren verstärkt wird. Auch in unseren eigenen Versuchen, in denen wir äqui-

effektive Dosen von Nor-Adrenalin und Adrenalin mit Methionin und Cholin kombinierten, wurde die Wirkung beider Sympathicomimetica durch Methyldonatoren verstärkt. Adenosintriphosphat steigerte diesen Effekt in beiden Fällen. Qualitativ verhält sich also die Adrenalinhyperglykämie wie die Nor-Adrenalinhyperglykämie, jedoch besteht der quantitative Unterschied, daß die Adrenalinwirkung deutlich schwächer beeinflußt wird.

Holtz und Mitarbeiter nehmen für das Methionin eine oxydationshemmende Wirkung an. Würde diese Annahme stimmen, so müßte sich Methionin durch die sicher oxydationshemmenden Cystein und Homocystein ersetzen lassen, was aber nach unseren Versuchen nicht der Fall ist. Gegen diese Annahme und für eine Bedeutung der Methylgruppe für die Nor-Adrenalinaktivierung spricht ferner die Ersetzbarkeit des Methionins durch Cholin, nicht aber durch Triäthylcholin. Die Adrenalinhyperglykämie wurde dagegen durch Homocystein gesteigert, so daß sich ein weiterer Unterschied zwischen Nor-Adrenalin und Adrenalin ergibt. (In unseren Versuchen war das Homocystein stets mit Adenosintriphosphat kombiniert.)

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Methyldonatoren die Adrenalinwirkung durch Hemmung einer Entmethylierung verstärken können. Allerdings ist eine Entmethylierung des Adrenalins bisher nicht eindeutig nachgewiesen. Die Verstärkung der Adrenalinhyperglykämie durch Homocystein ist vorläufig noch nicht erklärlich.

Von Holtz und Mitarbeitern wurde gegen eine Bedeutung der Methylgruppe bei der Nor-Adrenalinverstärkung durch Methyldonatoren ferner eingewandt, daß die Wirkung einer Nor-Adrenalindosis durch Methyldonatoren eventuell über die Wirkung einer gleichen Adrenalindosis hinaus gesteigert werden kann und daß außerdem die Methyldonatoren auch an Testobjektiven wirksam sein können, die gegen Nor-Adrenalin und Adrenalin gleich empfindlich sind.

Diese Befunde lassen sich möglicherweise dadurch erklären, daß bei einer teilweisen Umwandlung von Nor-Adrenalin in Adrenalin Gemische von einer gegenüber den Einzelkomponenten erhöhten Wirksamkeit entstehen. Hierauf deuten nicht nur Angaben in der Literatur, sondern auch eigene Versuche über die Wirkung von Adrenalin- und Nor-Adrenalinkombinationen am Blutzucker hin.

E. Gross (Bonn): Über den Triphenylmethanfarbstoff Lichtgrün SF als Sarkomerreger bei der Ratte.

In Deutschland hat für die Färbung von Lebensmitteln z. Z. noch eine veralterte Gesetzgebung Gültigkeit. Es handelt sich dabei um das „Farben-

gesetz vom Jahr 1887"[1], das einige wenige Farbstoffe bestimmt, die nach dem damaligen Stand der Erkenntnisse als gesundheitsschädlich von der Färbung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen ausgeschlossen sind, und das ferner bestimmt, welche chemischen Bestandteile solche Farben nicht enthalten dürfen. Es kam dann später das „Lebensmittelgesetz des Jahres 1927" (mit der Fassung von 1936), das im § 3 ganz allgemein verbietet, Lebensmittel für andere so herzustellen, daß ihr Genuß die menschliche Gesundheit zu schädigen geeignet ist. Einem Gesetz mit einer so allgemeinen Fassung haften natürlich große Mängel an. Die Bundesrepublik hat jetzt endlich ein neues Lebensmittelgesetz in Vorbereitung, das nach dem Vorbild einiger anderer Staaten nur ganz wenige Farbstoffindividuen, die auf ihre Unbedenklichkeit eingehend geprüft und beurteilt sind, für Lebensmittelfärbung zulassen will. Beraten werden die zuständigen Staatsstellen hierbei von dem Lebensmittelfarbenausschuß der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der vor einigen Jahren unter der Leitung von Butenandt ins Leben gerufen wurde.

Im Rahmen der Arbeiten dieses Ausschusses haben wir nun den sauren wasserlöslichen Triphenylmethanfarbstoff Lichtgrün SF, der sich für die Färbung von Früchten, Gemüsen, Likören, Bonbons usw. ausgezeichnet geeignet hätte, toxikologisch geprüft und bei Versuchen an verschiedenen Tierarten gefunden, daß er weitgehend harmlos ist. Er wird bei einmaliger Verabreichung subcutan, intravenös und intraperitoneal noch bis zu Dosen von ½—1 g pro kg Tiergewicht vertragen. Er kumuliert praktisch nicht, wird in 1—2 Tagen bis auf vielleicht minimale Mengen im Harn und in der Galle wieder ausgeschieden, und ganz besonders wird er vom Verdauungstraktus aus so gut wie nicht resorbiert. Somit wäre der Farbstoff für Lebensmittelzwecke günstig zu beurteilen gewesen.

Während unserer Untersuchungen wurden uns Versuche von zwei Amerikanern, Schiller[2] und Harris[3] bekannt, die bei Krebsstudien gefunden hatten, daß die 2mal wöchentliche subcutane Injektion einer 1—3%igen wäßrigen Lösung von Lichtgrün, stets an derselben Stelle appliziert, nach vielen Monaten rein lokal zu Sarkombildung führte. Die Präparate der Amerikaner waren aber unrein, in 2% Lösung stark sauer, so daß es unklar blieb, ob überhaupt der Farbstoff als solcher geschädigt hatte, oder seine unbekannten Verunreinigungen oder vielleicht nur der stark saure Reiz die Sarkombildung verursacht hatte.

[1] Gesetz, betreffend die Verwendung gesundheitsschädlicher Farben bei der Herstellung von Nahrungsmitteln, Genußmitteln und Gebrauchsgegenständen vom 5. Juli 1887.

[2] Schiller, W.: Rat Sarcoma produced by the Injection of the Dye Light Green S. F. (Amer. J. of Cancer **31**, 486—490, 1937).

[3] Harris, P. N.: Production of Sarcoma in Rats with Light Green S. F. (Cancer Res. **7**, 35—36, 1947).

Der Farbstoff, mit dem wir arbeiteten, war als präsumptiver Lebensmittelfarbstoff ganz besonders sorgfältig und rein dargestellt worden und hatte in 2% wäßriger Lösung ein p_H von 6,6. Wir fanden nun bei einer Versuchsanordnung, die weitgehend der der Amerikaner entsprach, bei einer relativ kleinen Zahl von Ratten (10) in dem hohen Prozentsatz von 80 eine Sarkombildung. Die ersten Tumoren traten 8 Monate nach Beginn der Behandlung auf. Die meisten lagen bei 1—1½ Jahren nach Versuchsbeginn. In einem Fall dieser Serie war die Behandlung nach einem Jahr abgebrochen worden, nach einem weiteren Jahr trat das Sarkom auf. In einer weiteren Serie von 10 Tieren wurde die Behandlung nach 3 Monaten abgestoppt. 5 Tiere gingen durch eine Stallseuche ohne Sarkombildung frühzeitig ein. Von den überlebenden 5 bekam 1 Tier 8 Monate nach Versuchsbeginn ein Sarkom, während 4 Tiere weiter beobachtet werden.

Bei den Tumoren handelt es sich um Spindelzellensarkome, die außerordentlich rasch wachsen, riesengroß werden können — in einem Fall bestand das Tier bei der Sektion fast zur Hälfte aus Sarkom — destruierend wachsen, in Einzelfällen Metastasen bilden und überimpfbar waren. Im histologischen Bild fällt die Polymorphie der Tumoren und die Bildung von teilweise grotesken Riesenzellen auf.

Durch unsere Versuche ist der Beweis geliefert, daß Lichtgrün SF als solches — wenigstens an der Ratte — eine carcinogene Wirkung entfaltet. Dieser Umstand ist um so auffallender, als es sich um einen Triphenylmethanfarbstoff handelt, der keine Spur von Fettlöslichkeit zeigt.

Obwohl der Körper vom Verdauungstractus aus sehr schwer resorbiert wird und in 3jährigen Verfütterungsversuchen des Amerikaners Nelson keine Krebswirkung zeigte, hat unsere Lebensmittelfarbenkommission auf Grund unserer Resultate Lichtgrün SF als Lebensmittelfarbstoff abgelehnt. Zu diesem Beschluß ist unser Ausschuß gekommen, weil wir auf dem Standpunkt stehen, daß ein Stoff, wenn er bei irgendeiner — auch einer ganz unphysiologischen Applikationsart — und einerlei bei welchem Tier und bei welcher Dosierung — mit Sicherheit eine carcinogene Wirkung gezeigt hat, einem Lebensmittel nicht zugesetzt werden darf.

Diskussion. Brücke (Wien): So interessant die Aufdeckung der sarkomerzeugenden Wirkung des Farbstoffes ist, so glaube ich doch sagen zu können, daß das Problem der Carcinomgefährdung durch Nahrungsmittelfarbstoffe gegenwärtig etwas übertrieben wird. Es bleibt die Frage, ob die i.m. Injektion überhaupt ein geeigneter Test ist, da man mit großen Konzentrationen der verschiedensten Extrakte auch aus Nahrungsmitteln gelegentlich Krebs erzeugt hat. Vor allem müßte sich die Aufmerksamkeit auch den kosmetisch verwendeten Farben zuwenden.

Oettel (Ludwigshafen): Es ist mir absolut unverständlich, daß zur Prüfung der etwaigen Cancerogenität eines Lebensmittelfarbstoffes die fortwährend wieder-

holte s.c. Injektion an der Ratte vorgeschrieben wird. Ratten bekommen auch nach der wiederholten Injektion von Arachisöl oder Schweineschmalz Sarkome. Eine der wenigen Substanzen, die beim Menschen mit starker Häufigkeit Krebs erzeugt, das β-Naphthylamin, bewirkt aber bei der Ratte keinen Krebs! Man würde also diese sicher cancerogene Substanz bei der Prüfung an der Ratte übersehen!

Die Farbstoffe sind in den Verdacht der Cancerogenität wohl vor allem durch einen falschen Analogieschluß gekommen: Nachdem die ersten gewerblichen Blasenkrebse bei „Anilinarbeitern" der Badischen Anilin- und Sodafabrik, Ludwigshafen/Rh., beobachtet worden waren, sprach man vom „Anilinkrebs". Und obgleich längst nachgewiesen ist, daß auch bei diesen Fällen die Krebsnoxe vor allem β-Naphthylamin und vielleicht Toluidin, aber sicher nicht Anilin war, wird auch heute noch vom gar nicht existierenden „Anilinkrebs" geschlossen auf „Krebs durch Anilinfarbstoffe" und überhaupt auf „Farbstoffkrebs". Dieser Krebsverdacht wurde dadurch verstärkt, daß Dimethylaminoazobenzol bei der Ratte ein ganz spezifisches Hepatom verursacht. Dieser „Spezialkrebs" ist aber bereits bei der Maus sehr schwer zu erzeugen, und andere Tiere bekommen überhaupt keinen Krebs nach „Buttergelb", so daß mit größter Wahrscheinlichkeit Buttergelb auch beim Menschen keinen Krebs verursacht.

Grundsätzlich ist jedenfalls zu sagen: Bei der Prüfung neuer Substanzen durch wiederholte s. c. Injektion an der Ratte kommen auch ganz harmlose Stoffe in den Verdacht, „cancerogen" zu sein. Andererseits haben wir keine Möglichkeit, die für den Menschen sicher cancerogenen Produkte mit dieser Prüfungsmethode zu erkennen.

Eichholtz (Heidelberg): Auf den grundsätzlichen Unterschied in der toxikologischen Beurteilung von lebensnotwendigen Lebensmitteln und den Farbstoffen, die aus technischen und anderen Gründen den Lebensmitteln zugesetzt werden, sei verwiesen.

Richards (North Chicago): In USA sollen alle Nahrungsmittel nochmals untersucht werden. Nach unserer Ansicht sollten Materialien, die Nahrungsmitteln zugesetzt werden, über mehr als eine Generation an Tieren durchgeprüft werden.

Heubner (Heidelberg): Wenn Herr Eichholtz eine Lösung der gesundheitlichen Probleme darin erblicken möchte, daß man erst einmal fragt, ob eine Färbung durch Vernunft zu begründen ist, so muß doch daran erinnert werden, daß die Motive menschlichen Handelns seltener in Erwägungen der Vernunft als in Affekten, also Wünschen, Wohlgefallen usw., bestehen. Und eine allgemeine Neigung von primitiven bis zu allen Arten von Kulturvölkern ist erkennbar, einen Genuß mit anderen Genüssen zu verbinden, wofür die Tendenz zur Herrichtung der Nahrungsmittel in einer dem Auge wohlgefälligen Form und Farbe nur ein Beispiel ist. In einer kleinen Schrift „Genuß und Betäubung durch chemische Mittel" habe ich einiges über diesen Gesichtspunkt dargelegt.

Schlußwort. Gross: Die Meinungen, ob man die künstliche Färbung von Lebensmitteln zulassen oder ablehnen soll, sind, wie schon in diesem Auditorium, so in der ganzen Welt geteilt. Die deutsche Lebensmittelfarbstoffliste, die gegenwärtig diskutiert wird, enthält 15 Farbstoffindividuen, von denen noch mehrere wegfallen dürften. Unsere Kommission arbeitet in enger Verbindung mit dem Ausland. Mit ganz wenigen Ausnahmen hat man überall in der Welt sich darauf geeinigt, die Färbung gewisser Lebensmittel mit bestimmten, gesundheitlich einwandfreien Farbstoffen in beschränktem Umfang zuzulassen. Es ist aber ein Unterschied, ob man aus absolut lebensnotwendigen Nahrungsmitteln, wie z. B. gebackenem Brot, in minimalsten Mengen vielleicht carcinogene Stoffe extrahieren

kann oder ob man Lebensmitteln künstlich Farbstoffe zusetzt. Wenn man dies schon tut, so muß man die Garantie geben, daß aus der Unzahl von existierenden Farbstoffen die harmlosesten ausgewählt werden, die sicher nicht carcinogen wirken. Herrn Oettel ist zu antworten, daß die von ihm genannten Stoffe bei Arbeitern Blasentumoren hervorrufen, während es sich hier um die ganz andere Frage handelt, ob das lebende Gewebe auf den Reiz der Farbstoffe allgemein mit einer Tumorbildung reagiert. Derart chronische Versuche lassen sich in größerer Zahl nur mit kleineren Laboratoriumstieren durchführen. Haben sie, wie im vorliegenden Fall, ein positives Resultat, so sind die von Herrn Richards, USA, geforderten weiteren Versuche, die sonst auch von uns ausgeführt werden, nicht nötig. Neben dem Lebensmittelfarbenausschuß unterhält die Deutsche Forschungsgemeinschaft noch weitere Ausschüsse, die z. B. Konservierungsmittel, Kosmetika, die sogenannten Mehlverbesserungsmittel u. a. m. bearbeiten.

R. Koch (Freiburg/Brsg.): Strahlenschutzwirkung des Cysteins.

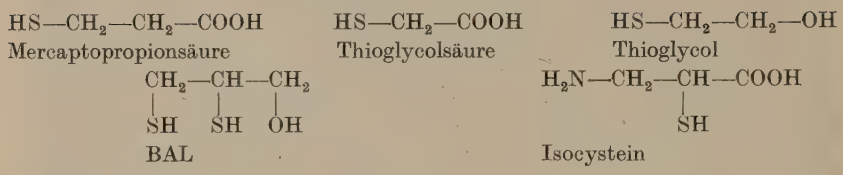
Im Jahre 1949/50 beobachteten Patt und Mitarbeiter, daß Cystein bzw. Glutathion vor einer Bestrahlung mit energiereichen Strahlen (γ-Strahlung) gegeben, Mäuse gegen die tödliche Wirkung derselben schützen können. Ihre Untersuchungen waren grundlegender Natur, indem sie feststellen konnten, daß der Schutzeffekt nur auftrat, wenn Cystein oder Glutathion kurz vor der Bestrahlung gegeben wurde. Schon wenige Minuten nach einem Strahleninsult fehlte eine Schutzwirkung. Dasselbe fand sich, wenn man die Körper länger als $\frac{1}{2}$ Std vorher zuführte. An Hand ihrer Versuche vermuteten sie, daß sehr wahrscheinlich eine freie SH-Gruppe notwendig sei, um den Effekt zu erzielen.

Etwa $1\frac{1}{2}$ Jahre später konnten Bacq u. Herve eine gleiche Schutzwirkung von dem Decarboxylierungsprodukt des Cysteins, dem Cysteamin feststellen. Auf Grund vorausgegangener Untersuchungen mit Aminen, nahmen sie an, daß neben der Sulfhydryl- eine freie Aminogruppe einen *zusätzlichen* Schutzeffekt hervorruft. Gleichzeitig wiesen sie darauf hin, daß das Cysteamin als wirksame Gruppe im Coenzym A auftritt und daß möglicherweise in dieser Richtung eine Erklärung zu suchen sei.

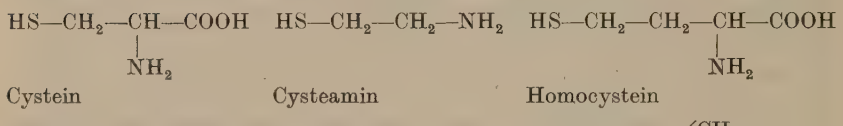
Um die Bedeutung der SH- und Aminogruppe, sowie der Gesamtkonfiguration für den beobachteten Effekt zu klären, untersuchten wir zunächst eine Reihe von Sulfhydrylkörpern, die keine Aminogruppe im Molekül besitzen, die aber in ihrer chemischen Konstitution dem Cystein bzw. Cysteamin sehr verwandt sind. Hierzu gehören Thioglykolsäure, Thioglykol, β-Mercaptopropionsäure und schließlich das BAL. Keine dieser Substanzen war in der Lage, einen Schutzeffekt hervorzurufen. Die so behandelten Mäuse starben genau so wie unbehandelte und entsprechend röntgenbestrahlte Kontrollen. Dabei muß hervorgehoben werden, daß z. B. die Thioglykolsäure bezüglich ihrer Sulfhydrylgruppe unter physiko-chemischen Gesichtspunkten im physiologischen p_H-Bereich genau so aktiv ist, wie diejenige des Cysteins.

Tabelle 1.

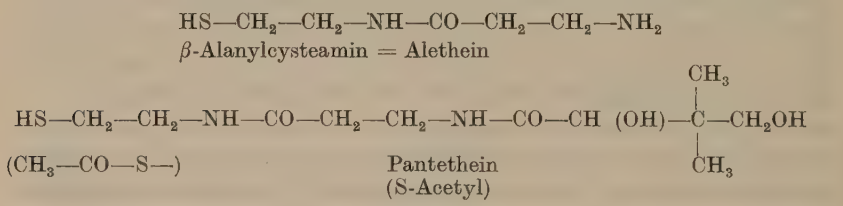
Nicht schützende SH-Körper.



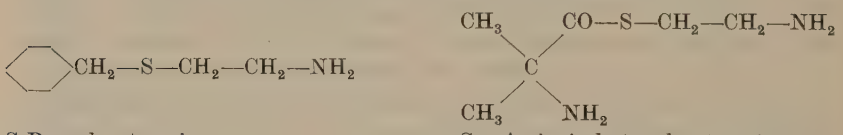
Schutzkörper



Bruchstücke des Coenzym A ohne Schutzwirkung



Fehlende Schutzwirkung bei blockierter SH-Gruppe



Aus diesen Untersuchungen ging hervor, daß das Vorhandensein einer aktiven Sulfhydrylgruppe allein noch nicht für die Strahlenschutzwirkung ausreicht.

In weiteren Untersuchungen nahmen wir Veränderungen an der Aminogruppe des Cysteamins vor. Wir prüften hier N-Acetylcysteamin, N-Monomethyl- und N-Dimethylcysteamin. Alle diese Körper besitzen einen starken Strahlenschutzeffekt, weisen aber dabei noch besondere Eigentümlichkeiten auf. So hat das N-Acetylcysteamin auch noch, wenn

man es 2 Std vor der Bestrahlung appliziert, seine volle Wirkung. Bei den N-methylsubstituierten Körpern findet sich zwar keine zeitliche Verlängerung der Schutzwirkung, dagegen nimmt mit zunehmender Methylierung der Wirkungsgrad dieser Körper zu. Das heißt, daß wir beim N-Dimethylcysteamin nur noch $^1/_3$ der äquimolaren Cysteamindosis benötigen, um den gleichen Effekt zu erzielen. Diese Versuche beweisen deutlich, daß erstens bei der Schutzwirkung des Cysteins die Carboxylgruppe im Molekül ohne Bedeutung ist; zweitens bringen sie den Nachweis, daß im Cysteamin z. B. sich nicht die Wirkung der Sulfhydrylgruppe mit derjenigen der Aminogruppe addiert oder potenziert, sondern daß beide vorhanden sein müssen, um dem Molekül die Wirkung zu verleihen. Es ist nun interessant, daß sogar die Stellung der beiden Gruppen im Molekül von Wichtigkeit ist. Untersuchungen mit Iso-Cystein, einem Körper, bei dem die Stellung der SH- und NH_2-Gruppe vertauscht ist, zeigten, daß dieser keine Schutzwirkung besitzt.

Um feststellen zu können, ob im Cysteaminmolekül eine freie SH-Gruppe notwendig ist, untersuchten wir S-Benzylcysteamin und S-α-Aminoisobutyrylcysteamin. Beides Körper, in denen die Substituenten am Schwefel so fest sind, daß sie im Organismus nicht abgespalten werden. Die zwei S-substituierten Substanzen haben keinen Schutzeffekt mehr.

Um der von Bacq diskutierten Frage näher zu kommen, ob dem Cysteamineffekt Verbindungen zum Co-Enzym A zuzusprechen sind, wurden größere Bruchstücke des Coenzym A untersucht. Hierzu standen uns Alethein (β-Alanylcysteamin), Pantethein und Acetyl-Pantethein zur Verfügung. Lediglich das Alethein weist noch einen schwachen Schutzeffekt auf, wogegen derselbe beim Pantethein und Acetyl-Pantethein fehlt.

Wir haben auch Homocystein in unsere Untersuchungen mit einbezogen. Dieses ist gleichfalls in der Lage, Mäuse gegen Röntgenstrahlen zu schützen. Dabei ist von Bedeutung, daß die Zufuhr des Homocystein nur wenige Minuten vor der Bestrahlung erfolgt, so daß es sehr unwahrscheinlich ist, daß das später in der Leber sich aus Homocystein bildende Cystein dafür verantwortlich gemacht werden kann. Hierfür sprechen auch eigene, sehr umfangreiche Versuche mit Methionin mit fehlendem Schutzeffekt.

Die vorliegenden Untersuchungen beweisen, daß die Schutzwirkung des Cystein — Cysteamin ein sehr spezieller, an die Molekülkonfiguration gebundener Vorgang sein muß und nicht *allein* an die vorhandene Sulfhydrylgruppe gekoppelt ist. Es ist daher auch nicht mehr vertretbar, wie dies im Schrifttum immer wieder geschieht, daß man allgemein von einer Schutzwirkung der Sulfhydrylkörper gegenüber energiereichen, ionisierenden Strahlen spricht. Es muß allerdings einschränkend gesagt werden, daß diese Feststellung sich nur auf das Tierreich bezieht. Entsprechende

Untersuchungen an Pflanzen und Bakterien lassen die Vermutung zu, daß diese sich anders verhalten.

Literatur.

Bacq, Z. M., et A. Herve: Bull. Acad. roy. Méd. Belg. Ser. VI, **18**, 13 (1952). — Patt, H. M., E. B. Tyree, R. L. Straube and D. E. Smith: Science (Lancaster, Pa.) **110**, 213 (1949). — Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **73**, 18 (1950).

Diskussion. Repke (Greifswald): Unter Hinweis auf entsprechende Beobachtungen wird die Frage gestellt, ob die vorgetragenen Befunde nicht einfacher durch eine unterschiedliche Stabilität und Verweildauer der untersuchten Schutzstoffe im Organismus erklärt werden können. Für die Annahme einer Spezifität einzelner Verbindungen müßte der Nachweis geführt werden, daß die bezüglich ihrer Schutzwirkung verglichenen Stoffe noch am Ende der Strahlenexposition in vergleichbarer Menge in den untersuchten Organismen vorhanden sind.

Eichholtz (Heidelberg): Wie groß ist der Schutzeffekt solcher Stoffe; um wieviel Prozent kann die Gesamtstrahlmenge gesteigert werden, um den Schutzeffekt zu übertreten; sind es 5 oder 50%?

Schlußwort. Koch: Das Ausmaß der Schutzwirkung bewegt sich um 40—55% absolut gegenüber ungeschützten Kontrollen.

Die Oxydationsgeschwindigkeit, d. h. die Autoxydationsgeschwindigkeit, scheint keine wesentliche Rolle zu spielen, wie vergleichende Versuche am Cystein und Thioglykolsäure zeigten.

Die Verweildauer der Substanz ist wahrscheinlich nicht so wichtig, da die Schutzkörper bzw. zu prüfenden Substanzen 3—4 min vor dem Strahlenschutz appliziert wurden.

H. H. Hirsch und E. Voit (Frankfurt a. M.): Versuche zur Vermehrung des Schutzkolloidgehaltes im Harn und ihr Einfluß auf die experimentelle Erzeugung von Harnkonkrementen bei der Ratte.

Es ist bekannt, daß für die Stabilität eines normalen Urins von mittlerem bis höherem spezifischen Gewicht (1015—1030) verschiedene Faktoren verantwortlich zu machen sind. Unter diesen Faktoren ist die Wirksamkeit der Schutzkolloide von besonderer Bedeutung. Man hat den Mangel an Schutzkolloiden im Urin für die Harnsteinbildung verantwortlich gemacht. Lichtwitz[3] hat daher schon im Jahre 1913 die Harnsteinbildung durch eine therapeutische Zufuhr von Schutzkolloiden verhindern wollen. Bis heute hat es aber an geeigneten Schutzkolloiden gefehlt, um diesen Gedanken in die Tat umzusetzen. Denn Kunststoffe sind bisher für diesen Zweck nicht verwendet worden. Alle Naturstoffe aber mit den Eigenschaften eines Schutzkolloids haben Nachteile, die ihre Verwendungsfähigkeit beeinträchtigen. Ein brauchbares Harnschutzkolloid muß folgende Eigenschaften besitzen:

1. Es muß bevorzugt, wenn nicht sogar quantitativ über die Niere ausgeschieden werden.

2. Es darf nach seiner Passage durch den Körper seine Schutzkolloidwirksamkeit nicht eingebüßt haben.

3. Es muß vom Organismus reizlos vertragen werden.

Alle diese Anforderungen werden vom Polyvinylpyrrolidon erfüllt. Es ist nierengängig in den zur Anwendung gelangenden Fraktionen vom mittleren Molekulargewicht 12500 und 26000. Es ist fermentativ unangreifbar für den Körper, es wird also bei seiner Passage nicht verändert. Und es wird reizlos vertragen. Schließlich ist es schon seit über 10 Jahren als *Periston* erfolgreich in der Humanmedizin verwendet worden. Seine Eigenschaften sind daher besonders gründlich untersucht worden. Von seiner Eigenschaft als Schutzkolloid wird in der Technik seit langem Gebrauch gemacht. Nur in der Medizin hatte diese Eigenschaft bisher keine Berücksichtigung gefunden.

Aber nicht nur das Polyvinylpyrrolidon wirkt als Schutzkolloid, sondern mit geringerer Wirksamkeit auch der einfache Polyvinylalkohol und zahlreiche andere Kunststoffe dieser Gruppe.

Mit einer von ZSIGMONDY[5] ausgearbeiteten Methode, dem Goldsol-Test, kann man die Schutzkolloidwirksamkeit einer Lösung meßbar machen. Dem Goldsol-Test entspricht der von uns bevorzugte und auf unsere Untersuchungen abgestimmte Test mit Kongorubinsol[4]. In einer Lösung von Kongorubinsol wird mit Kaliumchloridlösung das Kongorubinsol gefällt. Ein Schutzkolloid kann in einer bestimmten Konzentration diese Fällung verhindern. Es wird die Grenzkonzentration bestimmt, die das System gerade noch stabil erhalten kann. Diese Konzentration ist für Polyvinylalkohol 20 γ/ml, für Polyvinylpyrrolidon etwa 5 γ/ml. Interessanterweise spielt das Molekulargewicht in den von uns untersuchten Grenzen: Polyvinylalkohol MG 14000—60000, Polyvinylpyrrolidon MG 12500—81000 für die Schutzkolloidwirksamkeit der verschiedenen Fraktionen keine Rolle. Nur die Substanzmenge pro Lösungsmitteleinheit, also die Anzahl der schutzkolloidwirksamen Gruppen pro Milliliter, ist ausschlaggebend für die Wirksamkeit. Auf Grund dieses Befundes kann man mit Hilfe der LOCHSCHMIDTschen Zahl die Anzahl der Vinylalkohol- resp. Vinylpyrrolidoneinheiten pro Milliliter der schutzkolloidwirksamen Grenzkonzentration berechnen. Es handelt sich für Polyvinylalkohol um die Konzentration 20 γ/ml = $2{,}8 \cdot 10^{16}$ Vinylalkoholeinheiten und für Polyvinylpyrrolidon um die Konzentration 5 γ/ml = $2{,}71 \cdot 10^{15}$ Vinylpyrrolidoneinheiten. Das Polyvinylpyrrolidon ist also ungefähr 10mal so wirksam wie der Polyvinylalkohol. Während der Anwesenheit von Polyvinylpyrrolidon im Harn nach seiner Ausscheidung durch die Niere findet man eine Vermehrung

der Schutzkolloidwirksamkeit des Harns. An dem Beispiel eines Wasserversuchs nach Volhard läßt sich dies gut demonstrieren Im Leerversuch fallen mit anfänglicher Verdünnung des Harns das spezifische Gewicht und die Schutzkolloidwirksamkeit gleichsinnig, um mit zunehmender Konzentration des Harnes gemeinsam wieder anzusteigen. Nach der Injektion von 20,0 Periston zu Beginn des Wasserversuchs ändert sich dies Verhalten. Das spezifische Gewicht fällt anfangs ab mit zunehmender Harnverdünnung. Die Schutzkolloidwirksamkeit des Harns steigt aber trotz Verdünnung an und senkt sich erst, nachdem das Periston ausgeschieden ist, auf einen mit dem Leerversuch übereinstimmenden Endwert.

Mit Periston läßt sich eine übersättigte Salzlösung stabilisieren.

Dieselbe lösungsstabilisierende Wirksamkeit entfaltet das Polyvinylpyrrolidon auch nach seiner Ausscheidung durch die Niere im Tierversuch. Mit Sulfathiazol läßt sich bei der Ratte bei der Dosierung 100 mg Sulfonamid/100 g Ratte regelmäßig eine Konkrementbildungskrise erzeugen. Es werden, wie von Koch[2] wiederholt beschrieben, massenhaft Kolloidkörperchen, Mikro- und Sphärolithen und Sulfonamidkristalle ausgeschieden. Eine s.c. Injektion von 1,0 ml Periston N/100 g Ratte kann die Konkrement- und Kristallausscheidung für 12 Std verhindern[1]. Die Sulfonamidausscheidung selbst wird dabei nicht beeinträchtigt. Nach 12 Std ist im Harn kaum noch Periston nachweisbar. Es muß erneut injiziert werden, wenn die Konkrementbildung weiterhin verhindert werden soll.

Literatur.

[1] H. H. Hirsch u. E. Voit, Kli. Wo. **32** (1954) 651. — [2] Koch, F. E.: Z. Urol. (Sonderh.) **1949**, 110. — Madaus Jber. **1952**. — [3] Lichtwitz, L.: Z. Urol. **7**, 810 (1913). — [4] Voit, E., u. H. H. Hirsch: Z. Urol. **47** (1954) 439. — [5] Zsigmondy, R.: Zur Erkenntnis der Kolloide. Jena 1905.

H. Eckel und W. Theobald (Homburg/Saar): Die Wirkung von Retardmitteln auf den Phenolsulfonphthaleinblutspiegel bei der Ratte.

Mit 1 Textabbildung.

Seit einigen Jahren werden bei der therapeutischen Verwendung von Penicillin und PAS häufig zusätzlich sogenannte Retardmittel verabreicht, welche die renale Ausscheidung verzögern und dadurch den Blutspiegel dieser Medikamente wesentlich erhöhen. Nach Angabe vieler Autoren (Boger, Baker, Douthwaite) gelingt es dabei, auch verschiedene Krankheiten, wie z. B. bestimmte Arten von Endocarditis lenta, Osteomyelitis, Tuberkulose, die vorher einer wirkungsvollen

Therapie weniger zugängig waren, günstig zu beeinflussen, ohne durch eine Erhöhung der Dosis eine Steigerung der Nebenwirkungen in Kauf nehmen zu müssen. Da der Farbstoff Phenolsulfonphthalein in gleicher Weise wie Penicillin und PAS tubulär sezerniert wird, erlaubt es die im Tierversuch leicht auszuführende Bestimmung seiner Blutkonzentration, die durch Retardmittel bedingte Verzögerung der renalen Ausscheidung vergleichend zu untersuchen.

Zur Prüfung auf ihre Retardwirkung kamen:

Probenecid	p-(di-n-Propylsulfamyl) -benzoesäure	(Benemid Sharp u. Dohme)
Butacid	p-Carboxy-benzolsulfo -di-n-butylamid	(Longacid Cassella)
Carinamid	4'-Carboxyphenylmethan-sulfonanilid	(Caronamid Sharp u. Dohme)
SKF-525A	β-Diäthylaminoäthyl-diphenylpropylacetat HCl	(SKF-525A Smith, Kline u. French)

Methode.

Für unsere Versuche verwendeten wir männliche weiße Ratten in einem mittleren Gewicht von etwa 300 g. Jede Substanz bzw. Einzeldosis wurde an 20—30 Tieren untersucht. Der Untersuchungsgang gestaltete sich folgendermaßen:

Vor dem Versuch wurden die Tiere mit 70 mg/kg Numal i.p. narkotisiert. Die Testsubstanzen verabreichten wir entweder 2½ Std subcutan oder 3½ Std per os vor der Injektion des Farbstoffes. Das Phenolsulfonphthalein wurde in einer Menge von 75 mg/kg in 3%iger Lösung in die Penisvene injiziert. Nach Ablauf von 30, 60, 120 und 180 min wurde die Konzentration des Farbstoffes im Blut ermittelt. Das hierzu erforderliche Blut, 7—10 Tropfen pro Analyse, wurde aus den Schwanzgefäßen gewonnen, gewogen, mit der 5fachen Menge physiol. NaCl-Lösung verdünnt und zentrifugiert. 1 cm³ des verdünnten Serums wurde mit 8 cm³ physiol. NaCl-Lösung weiterverdünnt und mit 1 cm³ einer 1%igen Sodalösung alkalisiert.

Die Farbstoffkonzentration bestimmten wir mit Hilfe des Haveman-Colorimeters, wobei nach 0-Einstellung der Colorimeterblende durch Zugabe von $^1/_{10}$ cm³ 20%iger Essigsäurelösung zu dem verdünnten Serum ein Farbumschlag von Rot auf Gelb erreicht wurde, dessen Intensität am veränderten Trommelwert abgelesen und an Hand einer Eichkurve auf γ/cm³ transponiert werden konnte.

Resultate.

Unsere Versuchsergebnisse sind aus Abb. 1 sowie Tab. 1 zu ersehen.

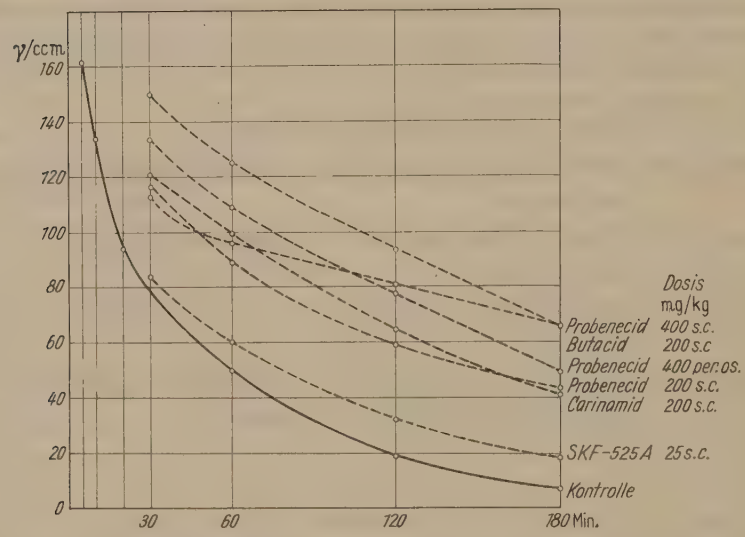


Abb. 1. Wirkung von Retardmitteln auf den Sulfonthaleinblutspiegel bei der Ratte.

Tabelle 1. *Blutspiegel von Phenolsulfonphthalein nach intravenöser Injektion von 75 mg/kg bei der Ratte.*

Präparat	Dosis mg/kg	Blutspiegel von 40 γ/cm³ erreicht nach Minuten	„Retardwirkung" %	Blutspiegel nach 180 min. γ/cm³	„Retardwirkung" %
Kontrolle . . .	—	75	0	7	0
Probenecid „Benemid" .	200 s.c.	200*	167	44	529
Butacid „Longacid" .	200 s.c.	360*	380	66	843
Carinamid „Caronamid" .	200 s.c.	182*	143	41	486
SKF—525 A . .	25 s.c.	99	32	18	157

* extrapolierte Werte.

Abschließend sei nochmals darauf hingewiesen, daß in der von uns gewählten Versuchsanordnung nur die Wirkungskomponente der Retardmittel auf die tubuläre Ausscheidung erfaßt wird. Diese Methode gibt jedoch keinen Aufschluß, ob die untersuchten Retardmittel nicht auch noch in der Lage sind, eine Erhöhung des Blutspiegels von Medika-

menten durch eine Verzögerung des Abbaues dieser Substanzen bewirken zu können, wie sie z. B. Axelrod u. Mitarb. für das SKF-525 A gegenüber verschiedenen Barbitursäurepräparaten und Beyer für das Probenecid gegenüber PAS gefunden haben.

W. Scheler und L. Wallis (Berlin-Buch): Zur Natur von Methämoglobin-Verbindungen.

Bei unseren Versuchen über den Einfluß von Fremdionen auf das Methämoglobin-Azid-Gleichgewicht erwies sich das Formiat als weitaus am aktivsten. Es tauchte die Frage auf, ob das Formiat nicht selbst ein Methämoglobin-Komplexbildner ist. Der Formiateffekt könnte dann auf eine einfache Verdrängungs-Hemmung der Azidbindung zurückgeführt werden. Für eine derartige Hypothese spricht auch die Tatsache, daß Formiat und Acetat von Agner u. Theorell als Komplexbildner der Katalase beschrieben werden. Dies trifft auf Grund unserer Versuche auch für das Methämoglobin zu. Die Absorptionsspektren der Formiat- und der Acetatverbindung des Methämoglobins sind durch ein Maximum bei 620 mμ (statt 632 beim freien Methämoglobin) gekennzeichnet. Auch Propionat lagert sich an das Methämoglobin unter Farbwechsel an. Die Dissoziationskonstante der Formiat-Verbindung liegt für $p_H = 6{,}0$ bei $3{,}55 \cdot 10^{-2}$ Mol Formiat/l, die des Methämoglobin-Acetats bei etwa 3 Mol Acetat/l. Die Gleichgewichtskonstante des Propionat-Komplexes liegt noch höher und entzieht sich einer genaueren Bestimmung.

Mit diesen Versuchen taucht die Frage nach dem Wesen und der Natur der Methämoglobinkomplexe auf. Nicht alle Anionen bewirken einen Farbwechsel des Methämoglobins, sie beeinflussen aber Methämoglobin-Gleichgewichte — z. B. mit dem Azid — zum Teil sehr erheblich. Es sollten also mindestens 2 aktive Gruppierungen im Methämoglobin vorhanden sein, wovon eine bei Anlagerung bestimmter Anionen eine Farbänderung veranlaßt, die andere ohne einen solchen Effekt Anionen bindet, jedoch gleichzeitig die Affinität der ersten Bindungsstelle beeinflußt. Nach den Arbeiten von George u. Hanania über den Ionenstärke-Einfluß auf das Ionisationsgleichgewicht des Methämoglobins sowie nach eigenen Untersuchungen kommt der unspezifische Anioneneffekt über die Glyoxaliniumgruppe des Häm-gebundenen Histidin-Restes zustande. Die Anlagerung von Cl^- oder NO_3^- an diese Gruppe hat keinen deutlichen Farbwechsel zur Folge, sondern verändert lediglich die Affinität der benachbarten Bindungsstelle für Azid, Fluorid usw. Daß trotzdem eine echte Bindung der nicht farbändernden Anionen an das Methämoglobin erfolgt, zeigt die — möglicherweise an der gleichen

Gruppierung zu lokalisierende — katalytische Wirkung des Methämoglobins gegenüber dem Chlorat-Ion.

Weitere Versuche auf diesem Gebiet ergaben noch andere überraschende Befunde. Wird das Redoxpotential Hämoglobin-Methämoglobin dadurch beeinflußt, daß man die oxydierte Form durch Zusatz von Hb(3)-Partnern, wie Cyanid, Azid und Fluorid, aus dem Gleichgewicht entfernt, so zeigt sich lediglich bei Zugabe von Cyanid eine intensive Veränderung des Redoxpotentials, und zwar um nahezu den theoretisch zu erwartenden Wert. Fluorid verursacht praktisch keine Senkung des Potentials und Acid eine solche von 30—40 mV.

Die pK-Werte der Verbindungen ergeben sich aus unseren experimentellen Daten wie folgt (30° C):

Methode	Hb(3)-CN	Hb(3)-N_3	Hb(3)-F
Aus Redoxpotentialänderung	7,3	0,4	—
Aus Absorptionsänderung	7,8*	5,2	1,7

* Für 20° C; auf freies Ion korrigiert.

Lediglich beim Cyanid stimmen die pK-Werte in der Größenordnung überein, besonders wenn der Temperaturfaktor berücksichtigt wird. Das hat folgende Konsequenzen:

1. Nur das Cyanid bindet sich an das Eisen des Häms in der zu erwartenden Weise.

2. Azid, Fluorid usw. binden sich nicht direkt an die bei der Redox-Titration aktive Gruppierung.

3. Es gibt insgesamt mindestens 3 Gruppierungen, welche im Methämoglobin Anionen binden können.

Derartige Verschiedenheiten sind bereits früher von uns beschrieben worden. So besitzt die Cyanid-Verbindung eine völlig andere p_H-Abhängigkeit ihrer Gleichgewichtskonstanten als die übrigen Komplexe. Ebenso fallen ihre Eigenschaften bei der thermischen Denaturierung vollkommen aus dem Rahmen der übrigen Verbindungen heraus. Schließlich scheint in diesem Zusammenhang von Interesse, daß das Cyanid leicht vom Hämatin, der isolierten prosthetischen Gruppe des Methämoglobins, gebunden wird, während Fluorid und Azid keine Hämatinkomplexe bilden. Diese Tatsache bekräftigt somit unsere Schlußfolgerungen. — In der folgenden Tabelle sind zur Übersicht noch einmal die verschiedenen Arten von Methämoglobin-Komplexbildnern gegenübergestellt:

Anion	Redox-potential Hb(2)-Hb(3)	Licht-absorption	Beeinflussung von Hb(3)-Gleichgewicht	Hämatin-komplex	Magnet-moment	Katalytische Effekte
CN^-	aktiv pK = 7,3	aktiv pK = 7,8	aktiv	+	2,50	?
N_3^-	mäßig aktiv pk = 0,4	aktiv pK = 5,2	aktiv	—	2,84	möglicherweise aktiv
F^- u. a.	inaktiv	aktiv pK = 1,7	aktiv	—	5,92	?
Cl^-, NO_3^- ClO_4^- u. a.	gering aktiv	nahezu inaktiv	mäßig aktiv bis aktiv		5,80	?
ClO_3^-	?	nahezu inaktiv	aktiv			aktiv

Die vorliegenden Ergebnisse haben gewisse Konsequenzen hinsichtlich der Wirkungsweise von Fermenten und ihrer durch die Proteinkomponente bedingte Spezifität. Sie sind Unterlagen zur Erklärung der bei der Chlorat-Katalyse ablaufenden Mechanismen.

Literatur.

Agner, K., and H. Theorell: Arch. of Biochem. a. Biophysics **10**, 321 (1946). — George, P., and G. Hanania: Biochemic. J. **55**, 236 (1953).

D. Demonstrationen.

H. Breuninger (Tübingen): Unblutige Blutdruckmessung an Kleintieren mit dem Kondensatormikrophon nach Brecht und Boucke.

Es wird eine Methode zur unblutigen Blutdruckmessung an Kleintieren (Ratten und Mäusen) mit einem Kondensatormikrophon (Infraton-Pulsabnehmer nach Brecht u. Boucke) demonstriert.

Zur Durchführung der Messung werden die nicht narkotisierten Tiere in verstellbare Kästchen gesetzt. Es wird eine Gärtner-Manschette über den Schwanz bis zur Schwanzwurzel geschoben. Die Manschette steht mit einem Manometer in Verbindung. Der Schwanzpuls wird distal davon mit dem Kondensatormikrophon abgenommen. Über ein Vorsatzgerät können die Pulsationen der Schwanzarterien an einem Direktschreiber-Elektrokardiographen sichtbar gemacht und geschrieben werden. Der systolische Blutdruck wird mit dieser Anordnung nach dem Prinzip von Riva-Rocci ermittelt. Der diastolische Druck läßt sich aus dem Abfall der mittleren Höhe der Pulsamplituden bei ansteigendem Manschettendruck errechnen. Aus der Form der Pulskurve allein ergibt sich kein reproduzierbarer Anhaltspunkt für den diastolischen Druck, da eine Dikrotie meist nicht sichtbar ist. Zur Durchführung der Messung ist eine Milieutemperatur von 27° C optimal.

Vergleiche von blutiger Druckmessung in der A. carotis und unblutiger Druckmessung am Schwanz desselben Tieres ergaben befriedigende Übereinstimmung; die unblutig am Schwanz gewonnenen systolischen Blutdruckwerte lagen etwa 10 mm unter den blutig in der A. carotis gewonnenen Werten.

Die Methode eignet sich besonders zur Blutdruckmessung bei langfristigen Versuchen.

Es werden Kurven mit Blutdruckwerten von normalen sowie von durch Glomusausschaltung hypertonisch gemachten Ratten bei peroraler und subcutaner Verabreichung von blutdruckwirksamen Substanzen (z. B. Serpasil) demonstriert.

Literatur.

Brecht, K., u. H. Boucke: Pflügers Arch. **256**, 43 (1952).

P. Jungblut (Mainz): Gefäßreaktionen in Mäusenieren während Äthernarkose und nach intravenöser Adrenalin-Injektion beim nichtnarkotisierten Tier.

Ergänzend zum Vortrag werden Mikrophotographien von Gefäßstellungen in Mäusenieren mit der Benzidinmethode von Slonimski u. Cunge nach der intravenösen Injektion von Adrenalin demonstriert. Ähnliche Reaktionen der Nierengefäße lassen sich an Mäusen in verschiedenen Stadien der Äthernarkose feststellen. So entspricht der Füllungszustand der Gefäße in der Ätherasphyxie dem Dilatationsstadium nach Adrenalin. Im Excitations- und im Toleranzstadium kommen Bilder zur Darstellung, die der 2. und 3. Gefäßreaktion nach Adrenalin ähnlich sehen. Die Zuordnung einer der beiden Reaktionsformen zum Excitations- oder Toleranzstadium ist nicht möglich. Als Ursache für das Verhalten der Nierengefäße in Äthernarkose kann eine Ausschüttung von Adrenalin aus den Nebennieren diskutiert werden. Im Vergleich zu Kontrolltieren (8—10 γ Adrenalin, 2—4 γ Nor-Adrenalin, männl. Mäuse von 20—25 g) enthalten die Nebennieren von Mäusen nach einer Äthernarkose von 5—10 min 2—4 γ Adrenalin weniger. Eine ausführliche Darstellung der Ergebnisse erfolgt an anderer Stelle.

W. Felix (München): Die Messung des Blutstromes und des Urinflusses mit Thermistoren[1].

Prinzip. Thermistoren[2] sind sehr wärmeempfindliche Widerstände, deren Wert mit steigender Temperatur geringer wird (negativer Temperatur-Koeffizient). Der vom elektrischen Strom angeheizte Thermistor wird von der Flüssigkeit abgekühlt. Je stärker die Strömung, um so stärker ist die Abkühlung und damit das Anwachsen des elektrischen Widerstandes. Diese Widerstandsänderung wird mit der Wheatstone-Brücke gemessen.

Präparation am Tier. Das Blut wird aus der Arterie oder Vene in ein spiralförmig gebogenes T-Stück und von da wieder in das Gefäß zurückgeleitet. In dem seitlichen Ansatz des T-Stückes steckt der sondenförmige Thermistor. Seine Spitze, welche den empfindlichen Widerstand enthält, befindet sich in der Mitte des Blutstromes. Ein Schlauch, welcher den seitlichen Ansatz und den Thermistor überzieht, verhindert den Austritt des Blutes.

[1] Felix, W., u. H. Groll: Z. Biol. **106**, 208 (1953).

[2] Elektro-Spezial-GmbH., Hamburg 1, Mönckebergstr. 7. „NTC-Widerstände" 83903/1K—/2K5.

Da mit zunehmender Geschwindigkeit des Blutes die Thermistoren weniger empfindlich reagieren, wird der Blutstrom in dem spiralförmig gebogenen T-Stück durch Querschnittsvergrößerung verlangsamt. Mit stärker aufgeheizten Thermistoren kann man jedoch den Durchfluß auch bei normaler Geschwindigkeit messen. Es ist darum zweckmäßig, einen Apparat mit drei Wheatstone-Brücken zu verwenden[1]. Die einzelnen Brücken haben einen verschiedenen Ohmschen Widerstand, so daß man dadurch die Trägheit und Empfindlichkeit ändern kann. Thermistoren sind etwas anzeigeträge.

Temperatur. Die Temperatur und damit der Widerstandswert des Thermistors wird von dem elektrischen Strom und der Wärmeleitfähigkeit des Blutes bestimmt. Diese hängt wiederum von der Strömung und der Temperatur des Blutes ab. Je größer die Differenz zwischen der Bluttemperatur und derjenigen des aufgeheizten Thermistors ist, um so schwächer wirken sich Schwankungen der Bluttemperatur aus. Es wird praktisch nur noch die Strömung gemessen, wenn die Temperatur sich nicht um mehr als 1° C ändert. Außerdem besteht die Möglichkeit, Temperaturschwankungen durch einen zweiten Thermistor zu kompensieren (siehe [1]).

Eichung. Die Stromuhr kann während des Versuches mit einem Pitotschen Rohr geeicht werden. Das Pitot-Rohr oder auch ein gewöhnliches T-Stück wird stromabwärts von dem Thermistor angeschlossen. Das Blut läuft in ein Gefäß ab und wird anschließend wieder i.v. injiziert. Für eine Eichung benötigt man bei Katzen etwa 10 cm^3 Blut. Für Eichungen in vitro eignet sich auch das von W. Felix u. H. Groll[2] beschriebene Gerät.

Arterio-venöse Differenz. Außer der einfachen Strömung kann auch die Differenz des arteriellen Zu- und des venösen Abflusses gemessen werden. Ein Überwiegen des arteriellen Zustromes bewirkt einen positiven Ausschlag, und umgekehrt erhält man einen negativen Ausschlag, wenn der venöse Abfluß überwiegt.

Urinfluß. Die Präparation bleibt die gleiche wie bei der Blutstrommessung. Man kann den Urinfluß in beiden Ureteren getrennt oder auch zusammen messen, wenn man den Urin über ein T-Stück aus beiden Ureteren vereint. Der Urin wird entweder wieder in die Ureteren zurückgeleitet oder in einen Meßzylinder. Da der Urin langsam fließt, soll das Lumen des spiralförmigen T-Stückes eng sein (1—2 mm Durchmesser). Bei der langsamen Strömung reagieren die Thermistoren äußerst empfindlich, so daß man mit verminderter Empfindlichkeit und größerer

[1] Hersteller: Fa. Georg Graf, München-Geisenbrunn.
[2] Felix, W., u. H. Groll: Z. Biol. **106**, 208 (1953).

Trägheit messen muß. Wenn man den Urin in ein Gefäß abtropfen läßt, soll das Schlauchende sich in Höhe der Ureteren befinden, damit Stau- und Heberwirkung vermieden werden.

E. Gerlach (Heidelberg): Erläuterungen zur papierchromatographischen Trennungsmethode für die Phosphorsäure-Ester der Niere.

Es werden Unterlagen für die neu ausgearbeitete Methode zur Auftrennung der im trichloressigsauren Extrakt von Rattennieren enthaltenen Phosphor-Verbindungen vorgelegt.

1. Schematische Darstellung einer modifizierten Barium-Alkohol-Fällung, durch die der trichloressigsaure Extrakt in drei Fraktionen unterteilt wird.

2. UV-Photographien (Photoprint-Verfahren) und originalgetreue Chromatogramm-Pausen von zwei dieser Fraktionen, die unter Ausnutzung verschiedener papierchromatographischer Verfahrensweisen (ein- und zweidimensionale Chromatographie, „auf- und absteigende" Methode, verschiedene Temperaturen bei Anwendung neuentwickelter Lösungsmittel usw.) aufgearbeitet werden; hieraus ist die Position von etwa 20 verschiedenen Nucleotiden und anderen P-Verbindungen in den Chromatogrammen ersichtlich.

3. Mittelwert-Tabelle aus 20 getrennt durchgeführten Untersuchungen über die Normalverteilung von Phosphor-Verbindungen im Nierengewebe gesunder Ratten mit Angaben in Prozent-Phosphor, bezogen auf säurelöslichen Gesamtphosphor, γ P/g, μmol P/g und μmol/g, jeweils für Feucht- und Trockengewicht.

A. Fleckenstein und J. Janke (Heidelberg): Papierchromatographische Trennung der Phosphorsäure-Ester des ruhenden und kontrahierten Muskels.

Papierchromatographische Untersuchungen an annähernd 300 Muskelpaaren (M. rectus abdomn. von Esculenten, Temporarien und Kröten) haben ergeben, daß sich der Gehalt an ATP und ADP während einer Kontraktion gegenüber den Werten in ruhenden Muskeln nicht verändert. Dies gilt für die Kaliumkontraktur bei 0° C und bei 20° C, für die Starre-Kontraktur durch Coffein bei 0° C und für kurze tetanische Reizung bei 0° C und 20° C. Auch während der Acetylcholin-, Nicotin- und Succinylbischolin-Kontraktur tritt keine Abnahme von ATP und keine Zunahme von ADP ein.

Es werden sämtliche Unterlagen (Methodik der papierchromatographischen Aufarbeitung und Trennung, UV-Aufnahmen von ATP und ADP in 100 Muskel-Chromatogrammen, Ergebnisse der chemischen Analysen, statistische Auswertung usw.) vorgelegt, auf die sich diese Ergebnisse gründen.

Literatur.

Fleckenstein, A., u. J. Janke: Pflügers Arch. **258**, 177 (1953). — Fleckenstein, A., J. Janke u. M. Elke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **221**, 404 (1954). — Fleckenstein, A., J. Janke, G. Lechner u. G. Bauer: Pflügers Arch. **259**, 246(1954). — Fleckenstein, A., J. Janke, R. E. Davies u. H. A. Krebs: Nature London) **174**, 1081 (1954).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 195—209 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med. G. Kuschinsky) und dem Anatomischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med. et phil. nat. et med. h. c. A. Dabelow) der Universität Mainz.

Korrelationen zwischen Stoffwechsel-, Schilddrüsen- und Hypophysenveränderungen bei Ratten nach chronischer Verabreichung von NaJ, BAL und Methionin.

Von

Werner Förster, Christa Herrmann, Joachim-Hermann Scharf* und Friedrich Ehrenbrand.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Oktober 1954.)

In zwei vorhergehenden Mitteilungen (Förster und Muscholl, 1954a u. b) wurde gezeigt, daß durch BAL- oder Methioninzugabe die durch Methylthiouracil (MTU) ausgelösten Stoffwechsel- und Schilddrüsen (SD)-Veränderungen modifiziert werden können:

In einem subakuten Versuch trat die Stoffwechselwirkung schneller ein; bei Versuchsende (nach 16 Tagen) war trotz etwa gleicher Stoffwechselsenkung die SD-Gewichtszunahme geringer. In einem chronischen Versuch (64 Tage) normalisierte sich gegen Versuchsende der Stoffwechsel der mit MTU + Methionin behandelten Gruppe, obwohl die Epithelhöhe größer war und das SD-Gewicht etwa das Doppelte betrug. Dieser Dissoziation von Stoffwechselverhalten und histologischem Bild der SD entsprachen die cytologischen Befunde des Hypophysenvorderlappens (HVL), die zu der Annahme berechtigen, daß der Stoffwechsel durch die β-Zellen als wahrscheinlich verantwortliche Thyreotropinproduzenten gesteuert wird, während die Proliferation des SD-Epithels mit einer Zunahme der γ-Zellen im HVL korreliert ist. Bei hoher sekretorischer Anforderung an die SD über längere Zeit kommt es zu einer Vergrößerung und Gewichtszunahme dieses Organs, wobei sich die γ-Zellen in Thyreoidektomie-Zellen (im folgenden als T-Zellen abgekürzt) umwandeln (Scharf, Förster und Muscholl, sowie Scharf und Förster).

Durch die folgenden Untersuchungen sollte einerseits ein weiterer Beitrag zu den in der Literatur oft gegensätzlichen Befunden über den Einfluß verschieden hoher Joddosen auf den Stoffwechsel und die histologischen Veränderungen der SD und Hypophyse geleistet, andererseits die Möglichkeit untersucht werden, ob durch zusätzliche BAL- oder Methioninverabreichung die jodbedingten Einflüsse modifiziert werden können.

Methodik.

Alle Untersuchungen wurden gleichzeitig in einer großen Versuchsreihe mit 160 jungen weiblichen Albinoratten (durchschnittliches Anfangsgewicht etwa 100 g) von Oktober bis Dezember 1951 durchgeführt. Die von verschiedenen

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Züchtern stammenden Tiere wurden vor Beginn der Versuche gemischt und mit Hilfe einer Zufallstabelle in Gruppen zu 10 Tieren in Käfigen zusammengesetzt. Nach fortlaufender Nummerierung wurden aus jeder Zehnergruppe zufallsmäßig 6 Tiere für einen Stoffwechselvorversuch (4—5 Einzelwerte, berechnet auf 15 Minuten-Perioden) ausgewählt. In weiteren 10 Vorversuchen wurden jeweils aus dem gesamten Tiermaterial Gruppen zu 6 Ratten zufallsmäßig zusammengestellt und untersucht. Eine Varianzanalyse aller Vorversuche ergab keine signifikanten Abweichungen der Stoffwechselwerte zwischen den Gruppen ($P < 0{,}2$).

Gruppeneinteilung, Höhe der Dosierung, Verhalten des laufend kontrollierten Körpergewichtes, Zahl der während des Versuches spontan ad exitum gekommenen Tiere sind aus Tab. 1 zu ersehen. Die Versuchsdauer betrug 46 Tage.

Tabelle 1.

Gruppe	Art der Behandlung: 1. Substanz Dosis (mg/kg)	2. Substanz Dosis (mg/kg)	Tierzahl	Durchschn. Verhalten d. Körpergewichtes in % (bezog. a. Ausgangsgew.): nach 21 Tagen	nach 47 Tagen	Anzahl d. spontan gestorb. Tiere während des Versuchs
1	0,9% NaCl-Lösung 2 cm³/100 g		20		+39,0	0
2	NaJ[1] 250	—	20	— 3,5	+ 3,5	4
3	„ 1000	—	20	— 6,9	+ 3,7	9
4	„ 250 + Methionin[2]	3000	20	— 0,7	+ 0,2	7
5	„ 1000 + „	3000	20	— 5,4	+ 2,8	12(!)
6	„ 250 + BAL[3]	15	20	+ 6,4	+28,1	1
7	„ 1000 + „	15	20	— 4,5	— 0,7	9
8	Methionin 3000	—	10	+ 9,9	+ 2,3	0
9	BAL 15	—	10	+38,0	+58,0	0

[1] = NaJ (Merck).
[2] = dl-Methionin-Homburg.
[3] = BAL = Sulfactin-Homburg.
= 2,3-Dithiopropanol.

Für die freundliche Überlassung der Substanzen sei auch an dieser Stelle dem Chemiewerk Homburg Frankfurt/M. gedankt.

Lösungsmittel waren: Für NaCl Aqua dest., für NaJ und Methionin Leitungswasser, für BAL Olivenöl. Die NaJ-Lösungen wurden täglich kurz vor dem Sondieren frisch hergestellt. Mit Ausnahme von BAL wurden die Substanzen mit der starren Magensonde täglich einmal verabreicht (bei den Stoffwechseltieren stets nach der Stoffwechselbestimmung). BAL wurde i.m. abwechselnd in den re. und li. Oberschenkel gespritzt (0,1 cm³/100 g Ratte). Wartung der Tiere, Art der Stoffwechseluntersuchung und statistische Auswertung siehe Förster u. Muscholl, 1954a u. b.

In jeder Gruppe wurden 2mal wöchentlich Stoffwechselbestimmungen an 6 Tieren durchgeführt, die nach einer Zufallstabelle ausgewählt wurden. Die Untersuchung der Methionin-Kontrollgruppe mußte aus äußeren Gründen längere Zeit unterbrochen werden; ihre Ergebnisse wurden daher nicht aufgeführt. Um neben dem Stoffwechselverhalten auch laufend die histologischen Veränderungen von SD und HVL verfolgen zu können, wurden aus allen jodbehandelten Gruppen und der NaCl-Kontrollgruppe am 4., 7., 11., 13., 18. und 35. Tage meist je ein

Tier nach der Zufallstabelle ausgewählt, getötet, SD und HVL auf einer Torsionswaage gewogen und histologisch aufgearbeitet. Die SD wurden in Formol fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Hämalaun-Eosin und nach der Azanmethode gefärbt. Die Hypophysen wurden teils in Formol, teils in Susa fixiert, meist nach Heidenhain mit der Azanmethode gefärbt, aber auch Hämatoxylin-Eosin-, Sudanschwarz-, Acridinrot-, Chromhämatoxylin-, Resorcin-Fuchsin- und Kresazan-Präparate angefertigt. (Einzelheiten der histologischen Aufarbeitung und Auswertung siehe Scharf, Ehrenbrand und Förster.)

Versuche.

Die während des Versuchs beobachteten Stoffwechseländerungen sind in Abb. 1 und 6 wiedergegeben. Durch die Stoffwechselergebnisse der jodbehandelten Gruppen ließen sich keine einheitlichen Regressions-

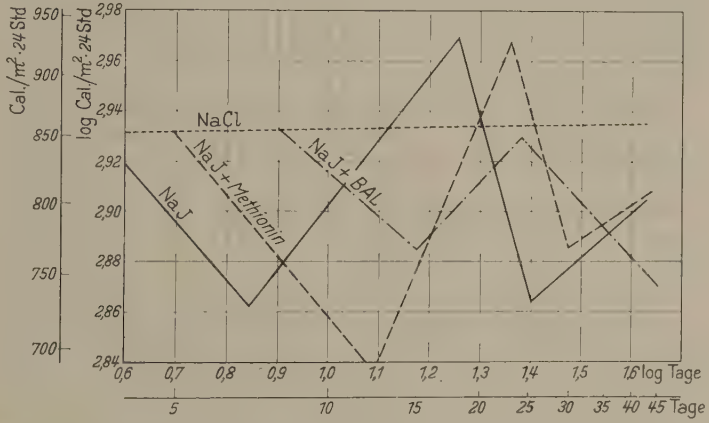


Abb. 1. Stoffwechselkurven (Regressionslinien) der mit 0,9% NaCl-Lösung (- - - - -), 250 mg NaJ/kg (————), 250 mg NaJ + 3000 mg Methionin/kg (— — —) und 250 mg NaJ + 15 mg BAL/kg (— · — · —) über einen Zeitraum von 45 Tagen behandelten Gruppen von Albinoratten. Abszisse: Behandlungstage, Ordinate: Cal/m² in 24 Std, beides in logarithmischer Auftragung.

gerade legen, so daß eine Unterteilung in einzelne Abschnitte vorgenommen werden mußte. Die Abweichungen der Stoffwechselwerte von den Regressionslinien sind gering und liegen innerhalb der statistischen Zufallsbreite (Originalkurven siehe Scharf, Ehrenbrand und Förster).

1. Kontrollgruppen.

Die NaCl-Kontrollgruppe zeigte während des Versuchs einen linear leicht ansteigenden Stoffwechsel mit nur geringen zufallsbedingten Schwankungen (maximaler Unterschied der Tagesmittelwerte während der ganzen Versuchsdauer nur 40 Cal/m² in 24 Std). Der Stoffwechsel der BAL-Gruppe liegt im ganzen tiefer mit fallender Tendenz. Richtung und gemittelter Abstand von der NaCl-Gruppe waren signifikant ($P < 0{,}001$). Trotz des signifikanten Stoffwechselunterschiedes sind die SD-Gewichte

beider Gruppen bei Versuchsende gleich (NaCl-Gruppe 5,22: BAL-Gruppe = 5,84 mg/100 g Körpergewicht).

Histologische Befunde. Bei den mit NaCl-Lösung behandelten Tieren zeigten sich leichte Veränderungen an SD und HVL, die jedoch ganz anderer Art waren als nach Verabreichung stoffwechselwirksamer Substanzen. Es ist beabsichtigt, diese Befunde weiter zu verfolgen. Da die

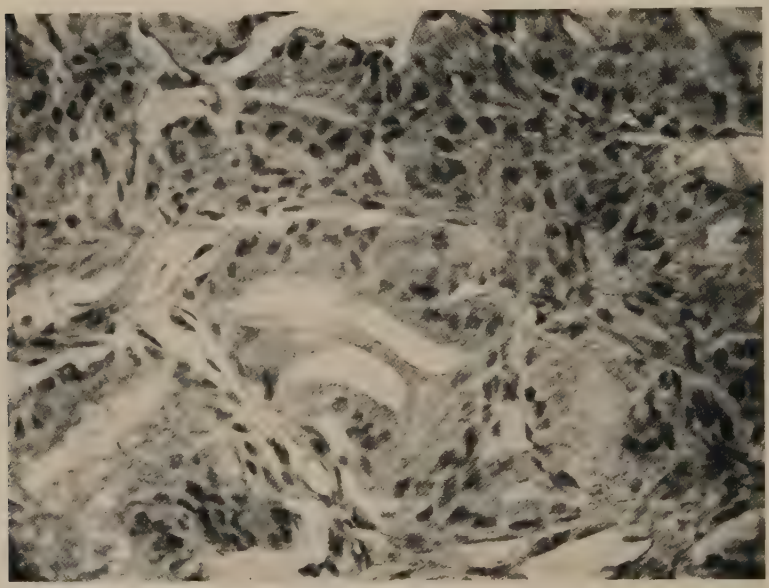


Abb. 2. Parenchymstruma der Rattenschilddrüse nach 45tägiger Behandlung mit 25 mg MTU + 30 mg BAL/kg et die (Förster u. Muscholl 1954b). Das Organ ist völlig entstellt, in weiten Partien ist die Follikelstruktur verlorengegangen. In der Bildmitte noch zwei Follikel mit hochprismatischem Epithel. Formol fix., Hämatoxylin-Eosin, 570:1. (9/10 verkleinert.)

BAL- und Methionin-Hypophysen früher eingehend histologisch untersucht worden sind (Scharf und Förster), wurde auf eine Wiederholung der histologischen Aufarbeitung verzichtet.

2. 250 mg NaJ/kg-Serie.

Im Stoffwechselverhalten der mit 250 mg NaJ/kg behandelten Ratten lassen sich 4 Phasen erkennen:

1. Ein erster steiler Abfall zwischen 4. und 7. Versuchstag;

2. Ein Stoffwechselanstieg zwischen 7. und 18. Versuchstag:

3. Ein zweiter steiler Abfall zwischen 18. und 25. Versuchstag;

4. Ein allmählicher Anstieg bis Versuchsende, der jedoch nicht die Norm erreicht. Maximaler Unterschied der Tagesmittelwerte = 195 Cal/m^2 in 24 Std.

Die zusätzlich mit *Methionin* behandelte Gruppe zeigte vollkommen parallel verlaufende, jedoch bis auf Phase 4 um etwa 5—6 Tage verzögerte Stoffwechselschwankungen. Auffallend ist weiterhin, daß die maximalen Stoffwechselunterschiede während des Versuchs noch größer waren als bei der Jodgruppe (249 Cal/m² in 24 Std).

BAL-Zugabe verzögerte noch stärker als Methionin die einzelnen Stoffwechselphasen (bis zum 8. Tag ist der Stoffwechsel normal) und

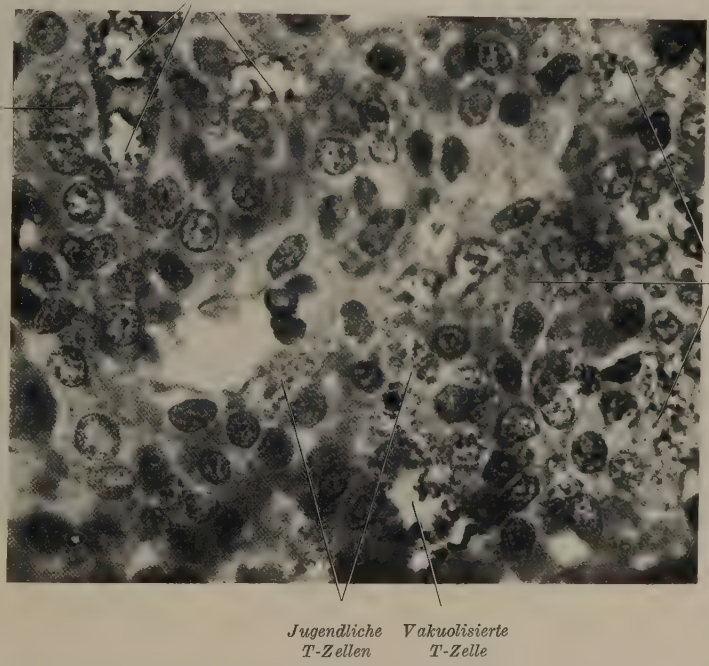


Abb. 3. Hypophysenvorderlappenausschnitt des gleichen Tieres wie Abb. 2. Weite Partien des HVL sind nach Stammzellvermehrung und Umdifferenzierung über γ-Zellen zu T-Zellen schwer verändert. Im Bild T-Zellen verschiedener Alters- und Vacuolisationsstufen. Susa fix., Azan 935:1. (19/20 verkleinert.)

schwächte sie im Gegensatz zu Methionin stark ab. Maximaler Unterschied der Tagesmittelwerte = 121 Cal/m² in 24 Std. Durch die Phasenverzögerung fiel der Beginn der 4. Phase nicht mehr in den Versuch (Abb. 1). Die statistische Überprüfung (nach Förster, 1952) der Stoffwechselunterschiede einzelner Phasen der Jodgruppe gegenüber den NaCl-Kontrollen sowie der zusätzlich mit BAL und Methionin behandelten Gruppen gegenüber der Jodgruppe ergab signifikante Abweichungen (P = 0,01—0,001, Herrmann).

Histologische Befunde*.

250 mg NaJ/kg.

SD. Die am 4. Tage im wesentlichen normale SD wird während der Phase 1 und 2 zunehmend aktiver: Das Kolloid wird schaumig, es sind Epithelhöhenzunahme, Bildung neuer Mikrofollikel und Hyperämie zu verzeichnen. Am Ende der Stoffwechselsteigerung erweckt die Drüse einen erschöpften Eindruck und es treten massenhaft parafollikuläre Zellen auf. Von Phase 3 an erfolgt zunehmende Inaktivierung der SD, als Endstadium zeigt sich eine Stapelschilddrüse mit sehr

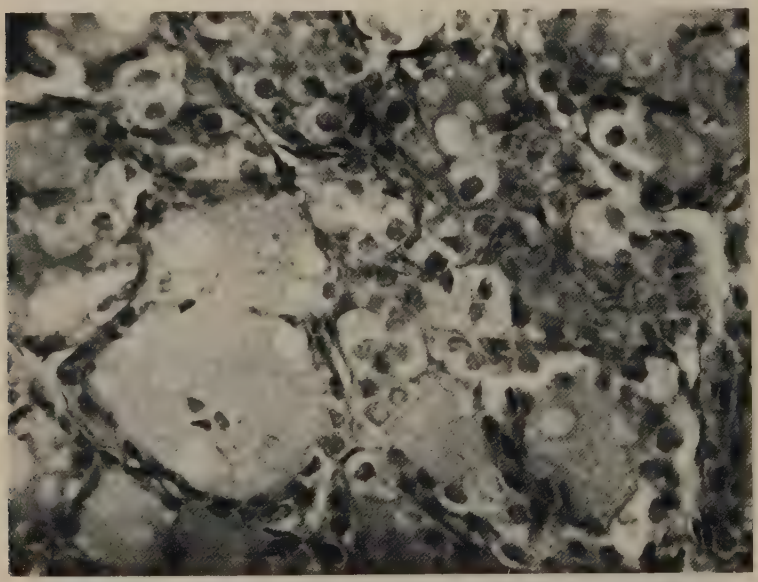


Abb. 4. Abschnitt einer noch proliferativ aktiven Partie aus der Rattenschilddrüse nach 47tägiger Behandlung mit 250 mg NaJ/kg et die. Während der überwiegende Teil der Schilddrüse wieder Kolloid speichert, zeigt der dargestellte Abschnitt noch intraepitheliale Thyreocytenknospung, Abschiebung der Tochterzellen aus dem Epithelverband, Bildung parafollikulärer Zellplatten und deren Umlagerung zu Mikrofollikeln. Formol fix., Hämalaun-Eosin, 570:1. (19/20 verkleinert.)

flachem Epithel, aber trotzdem noch deutlicher Proliferationstendenz (vgl. Abb. 2 gegen 4!).

HVL. Zu Beginn der Phase 1 α-Zellen teilweise entgranuliert, vermehrte Bildung unreifer β-Zellen mit schütterer Granulierung und Mikrovacuolisation. Zu Beginn der Phase 2 schwach granulierte α-Zellen, viele jugendliche β-Zellen und solche mit prominentem Golgi-Zentrum („$Golgi_{I\backslash}$-Formen" im Sinne von Ferrer und Pellegrini, 1952). Während des Stoffwechselanstieges Normalisierung der α-Zellen. Intravasales, feintropfiges, azanrotes Kolloid, β-Zellen mit prominentem Golgi-Zentrum beherrschen das Bild, in umschriebenen Bezirken auch holokrine Einschmelzung der β-Zellen. Phase 3 wurde nicht erfaßt. Am Ende der Phase 4 vermehrt β-Zellen (vgl. Abb. 3 gegen 5!), meist $Golgi_{I\backslash}$-Formen und ausgedehnte Bezirke mit holokriner Einschmelzung von β- und γ-Zellen.

* Einzelheiten siehe Scharf, Ehrenbrand und Förster (1954).

250 mg NaJ + 3000 mg Methionin/kg.

SD. Vor dem ersten Stoffwechselabfall umfangreiche Einschmelzungen des Follikelepithels und zum Teil sogar der bindegewebigen Follikelwände. Während des Stoffwechselabfalls Ruheschilddrüse mit massenhaft parafollikulären Zellen. Am Stoffwechseltiefpunkt ausgedehnte Epitheleinschmelzung. Während des Stoffwechselanstieges Formierung zahlreicher Mikrofollikel und massenhaft helle intra-

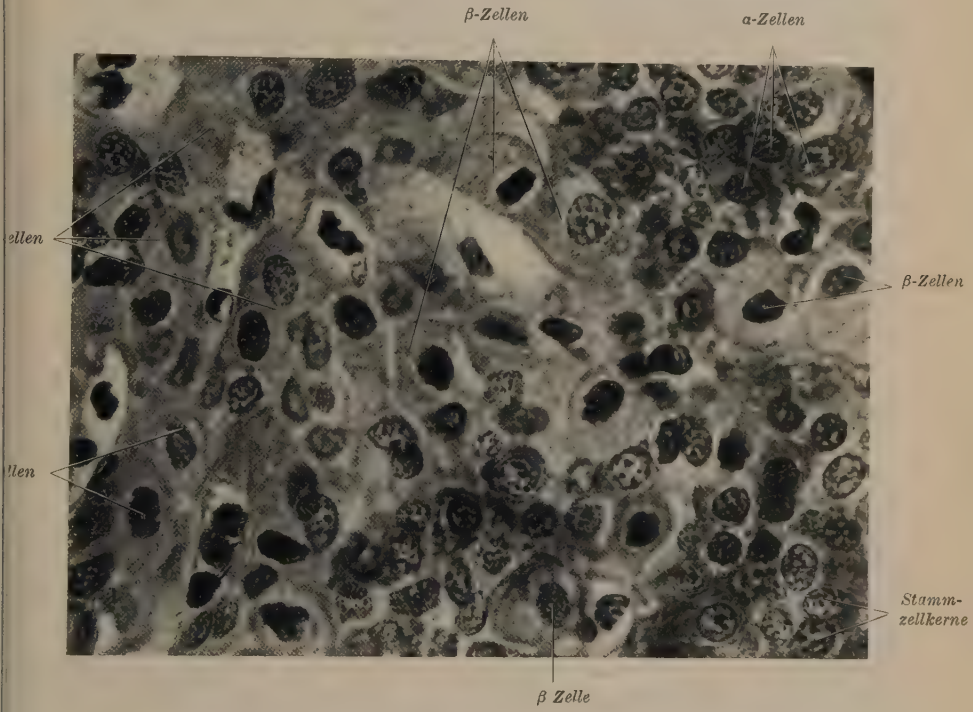


Abb. 5. Vorderlappenausschnitt des gleichen Tieres wie Abb. 4. Im Gegensatz zur MTU-behandelten Hypophyse mit T-Zellen (vgl. Abb. 3) zeigt die jodbehandelte Hypophyse deutliche Vermehrung der β-Zellen, vorwiegend in ihrer granulierten Variante. Der noch vorhandenen proliferativen Tendenz der Glandula thyreoidea entsprechend finden sich über den ganzen Vorderlappen verstreut *vereinzelte* T-Zellen (im Bild nicht enthalten!). Susa fix., Azan, 935:1. (19/20 verkleinert.)

epithelial gelegene parafollikuläre Zellen. Während der Phase 4 außerordentlich aktive SD mit zunächst schaumigem Kolloid sowie prismatischem und erst bei Versuchsende infolge Kolloideinlagerung abgeflachtem Epithel, zahlreichen Mikrofollikeln und intraepithelialen Capillaren.

HVL. Zu Beginn und während der Phase 1 ähnliche Veränderungen wie bei den Jodtieren, jedoch teilweise Beginn einer Holokrinie der β-Zellhaufen. Zu Beginn der Phase 2 α-Zellen wieder intakt, besonders viele kleine β-Zellen, die sich in höchster Aktivität befinden. Während des steilen Stoffwechselanstieges sind die β-Zellen so stark vermehrt, daß große Teile der Drüse wie basophile Adenome aussehen. Phase 3 wurde nicht erfaßt. Phase 4 mit langsamem Stoffwechselanstieg zeigt wieder abnorm zahlreiche β-Zellen mit prominenter Macula und oft holokrine Sekretion, ferner große Homogenate azanroten Kolloids in den Gefäßen.

250 mg NaJ/kg + BAL.

SD. Zu Beginn der Phase 1 bei noch normalem Stoffwechsel am 7. Tag eine gewisse Aktivierung. Am Ende der Phase 1 und zu Beginn der Phase 2 Follikel kolloidfrei, hohes Epithel, gehäuft auftretende Mikrofollikel. Mit steigendem Stoffwechsel vermehrt parafollikuläre Zellen, die sich zu Mikrofollikeln umlagern und auch Kolloid bilden. Phase 3: Zunächst Stapel-SD mit sehr flachem Epithel, intraepithelial massiert parafollikuläre Zellen. Mit fallendem Stoffwechsel Epithelerhöhung, Holokrinie, massiert Mikrofollikel und parafollikuläre Zellen.

HVL. Phase 1: α-Zellen wenig granuliert, β-Zellen vermehrt und häufig vacuolisiert, darunter aber auch Goglii-Formen. Zu Beginn von Phase 2 neben vermehrten β-Zellen mit prominentem Stoffwechselzentrum reichlich staubförmiges

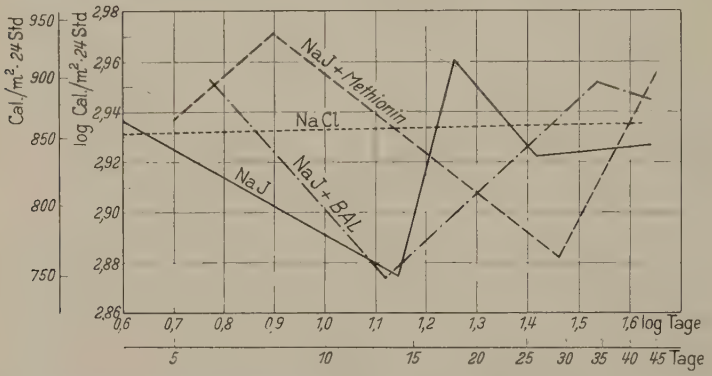


Abb. 6. Stoffwechselkurven (Regressionslinien) der mit 0,9% NaCl-Lösung (- - - -), 1000 mg NaJ/kg (————), 1000 mg NaJ + 3000 mg Methionin/kg (— — —) und 1000 mg NaJ + 15 mg BAL/kg (— · — · —) über einen Zeitraum von 45 Tagen behandelten Gruppen von Albinoratten. Abszisse: Behandlungstage, Ordinate: Cal/m² in 24 Std, beides in logarithmischer Auftragung.

azanrotes Kolloid in und um die Gefäße. Mit steigendem Stoffwechsel große intravasale Homogenate. Phase 3: Holokrinie vorwiegend der vermehrten β-Zellen, Auftreten von T-Zellen, Magmabildung.

3. 1000 mg NaJ/kg-Serie.

Die Stoffwechselveränderungen der mit dieser hohen Joddosis sondierten Tiere lassen sich in 3 Phasen unterteilen:

1. Langsamer Stoffwechselabfall zwischen 4. und 14. Tag,
2. sehr steiler Anstieg zwischen 14.—18. Tag,
3. Abfall zur Norm, die bis Versuchsende gehalten wird (Abb. 6).

Die einzelnen Stoffwechselphasen konnten gegenüber den NaCl-Kontrollen statistisch gesichert werden.

Die Deutung des Stoffwechselverhaltens unter *Methionineinfluß* ist schwierig. Vor die 1. Phase des Stoffwechselabfalls tritt ein Anstieg über die Norm zwischen 5.—8. Tag, der kein Analogon bei den Jodtieren besitzt. Das weitere Verhalten bis zum 29. Versuchstag kann im ganzen als eine stark verzögerte erste Phase des Stoffwechselabfalles gedeutet

werden, obwohl es am 24. und 26. Versuchstag zu einer kurzfristigen Stoffwechselsteigerung kam, die außerhalb der zufälligen statistischen Schwankungsbreite der Regressionslinien liegt. Die Phase 2 des Stoffwechselanstiegs ist um etwa 20 Tage gegenüber den Jodtieren verzögert. Phase 3 fällt nicht mehr in die Versuchszeit. Unter dieser Betrachtungsweise geht das Stoffwechselverhalten unter Methioninzugabe im ganzen doch parallel zu dem der Jodtiere.

Der Stoffwechselabfall unter *BAL-Einfluß* weicht nur wenig von dem der Jodgruppe ab. Dagegen ist der Stoffwechselanstieg der Phase 2 stark gehemmt, so daß er erst gegen Versuchsende seinen Gipfelpunkt erreicht. Phase 3 ist — wenn überhaupt — nur angedeutet. Ähnlich wie bei der 250 mg NaJ-Serie ist also der Stoffwechselabfall unter BAL-Zugabe voll ausgebildet, der Stoffwechselanstieg geht nicht sicher über die Normalwerte hinaus. Trotz gewisser Verschiedenheiten des Stoffwechselverhaltens im einzelnen modifizieren BAL und Methionin bei beiden Versuchsreihen in recht ähnlicher Weise den Stoffwechsel unter Jodgabe.

Histologische Befunde.

1000 mg NaJ/kg.

SD. Bereits zu Beginn der Phase 1 Aktivierung der SD, die mit fallendem Stoffwechsel zunimmt: Krümeliges Kolloid, hohes Epithel, Formierung vereinzelter Mikrofollikel, helle parafollikuläre Zellen intraepithelial, stellenweise Holokrinie. Am Ende der Phase 1 Beruhigung der SD, gut anfärbbares Kolloid, Abflachung des Epithels, nur noch vereinzelt holokrine Sekretion, aber noch vermehrt Mikrofollikel. Am Ende der Phase 2 Zunahme der Mikrofollikel, die aus intrafollikulären Zellhaufen (dunkle parafollikuläre Zellen) gebildet werden; massiert intraepithelial liegende, helle parafollikuläre Zellen. Während der Phase 3 zunächst keine SD-Änderungen. Erst am Ende starke Aktivierung mit hohem Epithel, vacuolisiertem Kolloid, massenhaft hellen parafollikulären Zellen, Mikrofollikelbildung, Hyperämie, vereinzelt Holokrinie.

HVL. Zu Beginn der Phase 1 sind die α-Zellen größtenteils schütter granuliert, der Rest hyperchromatisch. β-Zellen mit meist schwacher Granulierung und geblähtem Zelleib beherrschen das Bild. Am Ende der Phase 1 β-Zellen verausgabt, geblähte Typen mit pyknotischem Kern und spärlichen Granula, vereinzelt T-Zellen, in den Gefäßen feines azanrotes Kolloid. Am Ende der Phase 2 α-Zellen entgranuliert, vermehrt jugendliche vacuolisierte β-Zellen, keine Pyknosen. Während der Phase 3 bei normalem Stoffwechsel α-Zellen intakt, β-Zellen deutlich vermehrt, viele jugendliche Vacuolisierte. Bei Versuchsende intracapillär azanrotes Kolloid, β-Zellen größer als normal und stark vermehrt, vereinzelt holokrine Sekretion.

1000 mg NaJ/kg + Methionin.

SD. Während des dem Stoffwechselabfall vorangehenden Anstieges enthalten die im ganzen kleinen Follikel mit etwas erhöhtem Epithel gut anfärbbares Kolloid, Mikrofollikel etwas vermehrt. Während des Stoffwechselabfalls der Phase 1 ist die *SD* meist sehr aktiv: Abgesehen von den peripher gelegenen großen Follikeln mit dichtem Kolloid und normal hohem Epithel meist Mikrofollikel mit prismatischem Epithel, kolloidfrei oder nur schaumiges Kolloid, intraepithelial liegende, helle parafollikuläre Zellen mit Ausknospungstendenz. Aus Haufen dunkler parafollikulärer

Zellen werden neue Mikrofollikel gebildet. Vereinzelt holokrine Sekretion. Bei Versuchsende wieder sehr aktive *SD* mit prismatischem Epithel, Hyperämie, vermehrten parafollikulären Zellen, die zu Mikrofollikeln umgebildet werden, jedoch gut anfärbbarem Kolloid!

HVL. Während des ersten Stoffwechselanstiegs vermehrte β-Zellen, α-Zellen intakt. Während des Stoffwechselabfalls der Phase 1 vacuolisierte β-Zellen in Form kleiner Adenomknötchen, anfangs azanrotes Kolloid intracapillär, vereinzelte T-Zellen, Stamm- und γ-Zellen vermehrt. Zu Versuchsende β-Zellen extrem vermehrt, meist mit prominentem Stoffwechselzentrum, Holokrinie. α-Zellen normal, γ-Zellen stark vermehrt und vereinzelt zu T-Zellen umgebildet.

1000 mg NaJ/kg + BAL.

SD. Bereits vor Beginn des Stoffwechselabfalls bei noch normalem Stoffwechsel ist die SD aktiv: Schaumiges Kolloid, hohes Epithel, ausgedehnte parafollikuläre Zellhaufen mit Umlagerungstendenz zu Mikrofollikeln. Mit fortschreitendem Stoffwechselabfall einerseits eine gewisse Beruhigung der SD (flaches Epithel, wenig Mikrofollikel), andererseits holokrine Sekretion einzelner Follikel. Am Ende der Phase 1 wieder zahlreiche Mikrofollikel mit sehr hohem Epithel. Während der Phase 2 des Stoffwechselanstiegs stark färbbares Kolloid, flaches Epithel, größere interfollikuläre Zellhaufen mit hellen und dunklen parafollikulären Zellen, zahlreiche Mikrofollikel.

HVL. Vor und während des Stoffwechselabfalls wenig Veränderungen an den α-Zellen, β-Zellen sehr stark vermehrt, meist mit prominenter Macula und Granulaverarmung. Am Ende des Stoffwechselabfalls sind die β-Zellen völlig verausgabt. Während der 2. Phase des Stoffwechselanstiegs dominieren unter den vermehrten β-Zellen jugendliche Formen mit holokriner Sekretion. Sehr zahlreich auch die γ-Zellen. Bei Versuchsende starke Hyperämie, besondere hypertrophe α-Zellen; einerseits zahlreiche große verausgabte β-Zellen, andererseits granulierte β-Zellen, die nach holokriner Sekretion Magmaseen bilden, nur vereinzelte T-Zellen.

Diskussion.

Während einer 46tägigen Verabreichung hoher Joddosen konnten in vorliegenden Untersuchungen an Ratten bis zu 4 Phasen abwechselnden Stoffwechselabfalles und -wiederanstieges unterschieden werden mit Differenzen bis zu 250 Cal/m² in 24 Std. Dieser überraschend starken Dynamik des Stoffwechsels während des Versuches gehen histologische Veränderungen, speziell im HVL, aber auch in der SD parallel, die einen guten Einblick in die cytologisch faßbaren Regulations- und Gegenregulationsmechanismen des Hypophysen-Schilddrüsen-Systems ermöglichen.

Der krasse Gegensatz zwischen normalem Stoffwechsel, starker SD-Gewichtszunahme sowie Epithelerhöhung und tiefgreifenden cytologischen Veränderungen im HVL unter Methylthiouracil und Methioningabe (Scharf u. Förster) führte zu dem Schluß, daß eine voneinander unabhängig ablaufende doppelte Steuerung im Hypophysen-SD-System vorhanden sein muß: Es kann einerseits eine starke SD-Vergrößerung und proportionale T-Zellenzunahme in der Hypophyse bei normalem Stoffwechsel beobachtet werden, andererseits ist die β-Zellenzunahme

im HVL nur mit Veränderungen der Stoffwechselhöhe korreliert. Diese Befunde konnten in vorliegenden Untersuchungen bestätigt und weiter ausgebaut werden. Histologisch war während des ganzen Versuches niemals ein auffälliges Auftreten von T-Zellen zu beobachten. Entsprechend war bei Versuchsende bei keiner Gruppe trotz starker Stoffwechselabweichungen das SD-Gewicht signifikant erhöht. Umgekehrt waren die β-Zellen stets bei signifikanter Stoffwechseländerung alteriert: Bei *sinkendem Stoffwechsel* bildeten sich in den vorhandenen β-Zellen Vacuolen. Aus den sich vermehrenden Stammzellen entstanden vorwiegend β-Zellen, deren beschleunigter Sekretionscyclus sich bereits bei unreifen Formen in Vacuolisation als Ausdruck einer Hypersekretion manifestierte. Diese morphologischen Veränderungen deuten auf eine Gegenregulation durch vermehrte Thyreotropinausschüttung hin. Ist die SD jedoch bereits verausgabt, und daher nicht sofort „ansprechbar", kommt es im Extrem zu einer massiven Holokrinie vorwiegend der β-Zellen mit Einschmelzung ausgedehnter HVL-Bezirke und Bildung großer Magmalacunen.

Stoffwechselanstieg war stets verbunden mit einer Zunahme zunächst feintropfiger, später massierter intravasaler azanroter Kolloidkonglomerate und einer Vermehrung der β-Zellen mit prominentem Stoffwechselzentrum und verdichteter β-Granulation. Eine extreme adenomartige β-Zellanhäufung wurde während des Stoffwechselanstieges der 250 mg NaJ + Methioningruppe gesehen, die wenige Tage vorher den tiefsten Stoffwechselwert während des gesamten Versuches aufgewiesen hatte. Holokrinie, gedeutet als extremer Versuch, den Stoffwechselnormalwert zu erreichen, wurde bei der 1000 mg NaJ + BAL-Gruppe auch während des Stoffwechselanstieges zur Norm beobachtet.

Die α-Zellen zeigten manchmal in den NaJ- und NaJ + Methioningruppen während einer Stoffwechselsenkung eine geringgradige temporäre Schädigung, wohl als Zeichen eines zeitweiligen Thyroxindefizites. Demgegenüber fielen Zellvergrößerungen bei den zusätzlich mit BAL behandelten Jodtieren auf, während die α-Zellen der NaCl-Kontrollgruppe normal blieben. Beide Gruppen nahmen am stärksten an Körpergewicht zu, so daß die von vielen Autoren vermutete Bildung des Wachstumshormons in den α-Zellen durch vorliegende Befunde gestützt wird.

Vereinzelte T-Zellen traten stets dann in Erscheinung, wenn sich in der SD massiert parafollikuläre Zellen bildeten: während deren Umbildung zu Mikrofollikeln waren die T-Zellen aber meist wieder verschwunden. Das Auftreten massierter T-Zellen ist nach allen vorliegenden Befunden mit einem exzessiven Wachstum der SD korreliert, das nur bei langdauerndem Thyroxindefizit zustande kommt (Thyreoidektomie, Thiouracilgabe und ähnliches). Ein vorübergehendes Absinken des

Thyroxinspiegels für Stunden oder wenige Tage wird zunächst durch eine vermehrte Tätigkeit der β-Zellen (= vermehrte Ausschüttung des Stoffwechselfaktors „Thyreosekretin") ausgeglichen. Erst in zweiter Linie kommt es ohne nachweisbare Gewichtszunahme zu einer Proliferation der SD durch Epithelerhöhung. Ein höherer Grad proliferativer Tendenz zeigt sich schließlich darin, daß sich die Thyreocyten vermehrt teilen, die Tochterzellen aus dem Follikelepithel aussprossen und parafollikuläre Zellhaufen bilden, die sich schließlich zu neuen Follikeln (Mikrofollikel) umlagern. (Einzelheiten siehe Ehrenbrand 1953, 1954.) Die übergeordnete Steuerung dieser Proliferation erfolgt durch die zu einer vermehrten Sekretionsleistung angeregten γ-Zellen des HVL („Thyreoproliferin"-Produktion, mit Holokrinie im Extremfall), wobei sich vereinzelte T-Zellen aus γ-Zellen differenzieren können. Daß in vorliegendem Versuch trotz langdauernder Stoffwechselsenkung einzelner Gruppen (z. B. bei der 250 mg NaJ-Gruppe) keine massierte T-Zellzunahme zu beobachten war, hängt wahrscheinlich auch mit dem andersartigen Wirkungsmechanismus von Jod zusammen; im Gegensatz zu den thyreostatisch wirkenden Substanzen wird die Thyroxinsynthese nicht vollkommen blockiert.

Während die cytologischen Veränderungen des HVL als Gegenregulationsmechanismen mit den Stoffwechseländerungen relativ gut korreliert werden können, bereitete die histologische Beurteilung des SD-Bildes größere Schwierigkeiten. In einer SD können nebeneinander Zeichen einer gehemmten Inkretabgabe (gut färbbares Kolloid mit flachem Epithel), einer vermehrten Inkretbildung (große kolloidreiche Follikel einerseits und solche mit prismatischem Epithel andererseits, Bildung aktiver Mikrofollikel aus parafollikulären Zellen; Auftreten holokriner Sekretion) und einer Proliferationstendenz (Neubildung von Thyreocyten durch Mitosezunahme der Follikelepithelzellen, Aussprossung parafollikulärer Zellen) gesehen werden.

Eine schematische Zuordnung bestimmter histologischer SD-Bilder zu einzelnen Stoffwechselphasen oder histologischen Veränderungen des HVL ist in der herkömmlichen Weise nicht möglich. Dazu laufen zuviele Regulationsteilfunktionen am gleichen Zelltyp, dem Thyreocyten, nebeneinander ab. Die Vielzahl der verschiedenen Zelltypen im HVL ermöglicht eine bessere Einsicht. Trotzdem zeigte sich im Laufe der Versuche deutlich, daß gewisse Korrelationen zu dem Stoffwechselverhalten gefunden werden können, wenn man als physiologische Aufgabe der SD zugrunde legt, den Stoffwechsel auf die Norm einzuregulieren: bei fallendem Stoffwechsel war eine SD-Aktivierung, bei erhöhtem Stoffwechsel eine Ruhigstellung der SD zu beobachten. Als deutlichstes Beispiel dieser Gegenregulation ist die holokrine Sekretion zu nennen, die zur Zeit stärkster Stoffwechselsenkung zu beobachten war.

Zusammengefaßt läßt sich daher sagen, daß in vorliegenden Versuchen das histologische Bild der SD und des HVL mehr über die sekretorischen *Anforderungen* als über die inkretorischen Leistungen Auskunft gibt und gerade die dynamischen Veränderungen *während* des Versuches einen guten Einblick in die Korrelationen zwischen Cytologie und Stoffwechsel vermitteln.

Ähnlich wie bei den Versuchen mit MTU waren auch hier deutlich modifizierende Einflüsse von BAL und Methionin auf die durch verschieden hohe Joddosen verursachten Stoffwechselveränderungen nachzuweisen. Methionin verzögerte rein zeitlich die aufeinanderfolgenden Phasen des Stoffwechselanstieges und -abfalles. Speziell bei der mit der niedrigen Joddosis gespritzten Gruppe war der Stoffwechselverlauf auch in allen Einzelheiten nach zusätzlicher Methioningabe so exakt parallel zur Jodgruppe, wie man es bei biologischen Versuchen nur überhaupt erwarten kann. Die Phasenverschiebung betrug etwa 5—6 Tage. Die Verzögerungen nach der hohen Joddosis waren länger. BAL wirkte speziell bei der niedrigen Joddosis noch stärker verzögernd, es verhinderte aber auch jede Stoffwechselsteigerung über die Norm, während die Stoffwechselsenkungen voll ausgebildet waren. Diese zu Jod antagonistische Wirkung von BAL und Methionin kann durch die Eigenwirkung der Substanzen höchstens teilweise erklärt werden. Der Stoffwechsel der BAL-Kontrollgruppe war während der gesamten Versuchsdauer gegenüber der Norm gesenkt. Vielleicht wurde durch diese Eigenwirkung jeder Stoffwechselanstieg über die Norm verhindert. Der verzögernde Einfluß auf die einzelnen Stoffwechselphasen findet dadurch aber keine Erklärung. Die Eigenwirkung von Methionin kann in dieser Versuchsreihe durch die längere Unterbrechung der Zufuhr nicht exakt beurteilt werden. In früheren Versuchen (Förster und Muscholl) verursachte Methionin eine signifikante Stoffwechselsteigerung.

Die aus früheren Untersuchungen vorliegenden Befunde über den Einfluß von BAL und Methionin bei verschiedenen SD-wirksamen Stoffen lassen noch keine einheitliche Deutung zu. BAL hatte bei MTU-behandelten Ratten eine deutlich synergistische Wirkung in der ersten Phase des Stoffwechselabfalles; für die Stärke dieser Wirkung war jedoch das Dosenverhältnis zu MTU von Bedeutung. Das SD-Gewicht war je nach Dosenverhältnis reduziert oder gesteigert (Förster und Muscholl). Bei Zugabe zu Thioharnstoff wurden weder der Stoffwechsel noch das SD-Gewicht signifikant beeinflußt (Köhler). Der durch NaSCN gesteigerte Stoffwechsel erfuhr durch BAL-Zugabe eine weitere signifikante Steigerung, wobei auch die Richtung der Stoffwechselregressionslinie umgekehrt, das SD-Gewicht aber reduziert wurde. Die durch Contebengabe beobachtete Stoffwechselsenkung wurde durch BAL-Zusatz vollständig aufgehoben, während die SD-Gewichtszunahme noch verstärkt wurde (Muscholl). Die nicht signifikante Stoffwechselsenkung nach Badionalgabe wurde in eine signifikante Stoffwechselsteigerung umgewandelt, das durch Badional unbeeinflußte SD-Gewicht signifikant erhöht (Köhler). Die bei Meerschweinchen durch thyreotropes Hormon ansteigende Stoffwechselregressionslinie wurde durch BAL umgekehrt, das SD-Gewicht blieb unbeeinflußt (Scheuermann).

Ähnlich uneinheitlich sind die Ergebnisse nach zusätzlicher *Methionin*-Verabreichung: Bei MTU wurde die Stoffwechselsenkung synergistisch, das SD-Gewicht je nach dem Dosenverhältnis zu MTU synergistisch oder antagonistisch beeinflußt. Bei Zugabe zu NaSCN kam es ähnlich wie nach BAL zu einer weiteren Steigerung des Stoffwechsels mit Umkehrung der Richtung der Regressionslinie (Muscholl). Die Thioharnstoffwirkung wurde nicht beeinflußt (Köhler), die Stoffwechselsenkung nach Conteben in eine Stoffwechselsteigerung umgekehrt (Muscholl). Zusammen mit Badional kam es zu einer Stoffwechselsteigerung ohne Veränderung des SD-Gewichts (Köhler). Bei Meerschweinchen wurde die durch thyreotropes Hormon normalerweise erzeugte SD-Vergrößerung durch Methioninzugabe stark abgeschwächt, während der Stoffwechsel unbeeinflußt blieb (Scheuermann).

Ähnlich wie in den vorliegenden Jodversuchen zeigte sich also auch in jenen Versuchsreihen deutlich, daß Stoffwechsel- und SD-Gewichtsveränderungen nicht immer die früher postulierte Parallelität aufzuweisen brauchen. Ein Erklärungsversuch für die verschiedenartigen Einflüsse von BAL und Methionin bei den einzelnen Thyreostatica erscheint wohl noch verfrüht. Wenn eine Schlußfolgerung bereits erlaubt ist, dann wohl die, daß der Angriffspunkt und Wirkungsmechanismus der verschiedenen Thyreostatica ein verschiedener sein muß.

Zusammenfassung.

In parallel laufenden Versuchen an Ratten wurde der Einfluß von BAL und Methionin auf die jodbedingten Veränderungen des Gasstoffwechsels, des Schilddrüsen-(SD)-Gewichtes und des Zellbildes von SD und Hypophysenvorderlappen (HVL) untersucht. Folgende Befunde sind als gesichert zu betrachten:

1. Der Stoffwechsel nach 250 mg NaJ/kg ließ 4 Phasen abwechselnden Abfalles und Wiederanstieges mit maximalem Unterschied der Tagesmittelwerte bis zu 195 Cal/m² in 24 Std erkennen. Methioninzugabe bewirkte eine Parallelverschiebung der Stoffwechselkurve um 5—6 Tage, BAL-Zugabe verzögerte noch stärker und verhinderte jeden Stoffwechselanstieg über die Norm.

2. Der Gasstoffwechsel nach 1000 mg NaJ/kg zeigte 3 Phasen des Abfalls und Anstieges. Die Kombination mit Methionin und BAL hatte im wesentlichen einen ähnlichen Einfluß wie in der vorigen Serie.

3. Eine signifikante Veränderung des SD-Gewichtes war in keiner Gruppe festzustellen.

4. Die histologischen Veränderungen der SD sind als Ausdruck ablaufender Gegenregulationen zum Verhalten des Stoffwechsels zu deuten: Bei Stoffwechselabfall SD-Aktivierung, bei erhöhtem Stoffwechsel Ruhigstellung der SD. Bei stärkster Stoffwechselsenkung kommt es zu holokriner Sekretion ausgedehnter SD-Bezirke.

5. Die Proliferationsphase der SD war mit einer deutlichen Zunahme der γ-Zellen in der Adeno-Hypophyse verbunden. Vereinzelt differenzierten sich auch γ-Zellen zu T-Zellen um.

6. Bei veränderter sekretorischer SD-Tätigkeit, die sich in stärkeren Stoffwechselabweichungen von der Norm kundtat, kam es zu einer ausgeprägten Zunahme tätiger β-Zellen. Eine längerdauernde Stoffwechselsenkung trotz vermehrter β-Zellbildung führte zu holokriner Einschmelzung weiter Hypophysenabschnitte unter vorwiegender Beteiligung von β-Zellen.

7. Die Zahl der α-Zellen nahm bei gesenktem Stoffwechsel vorübergehend ab, es kam auch zu einer temporären Entgranulierung.

8. Der verschiedenartige Wirkungsmechanismus von BAL und Methionin bei verschiedenen thyreostatisch wirkenden Substanzen wird diskutiert.

Literatur.

Ehrenbrand, F.: Med. Inaugural-Diss. Mainz, 1953. —Z. mikrosk.-anat-Forsch. **60**, 337—354 (1954a). — Anat. Anz. **101**, 41—64 (1954b). — Ferrer, J., y C. Pellegrini: Rev. Soc. argent. Biol. **28**, 180 (1952). — Förster, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 270 (1952). — Förster, W., u. E. Muscholl: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 388 (1954a); **222**, 408 (1954b). — Herrmann, Ch.: Med. Inaug. Diss. Mainz, 1953. — Köhler, H.: Med. Inaug. Diss. Mainz, 1954. — Muscholl, E.: Med. Inaug. Diss. Mainz, 1952. — Scharf, J. H., F. Ehrenbrand u. W. Förster: Z. Zellforschg. **41**, 132—171 (1954). — Scharf, J. H., u. W. Förster: Z. Zellforschg. **40**, 117 (1954). — Scharf, J. H., W. Förster u. E. Muscholl: Naturwissenschaften **41**, 146 (1954). — Scheuermann, R.: Med. Inaug. Diss. Mainz, 1954.

Dr. med. Werner Förster, Ludwigshafen Rh., Ebertstr. 1.
Dr. med. et rer. nat. Joachim-Hermann Scharf und Dr. med. Friedrich Ehrenbrand, Mainz, Anatom. Institut d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 210—236 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Der Einfluß von Megaphen auf den Verlauf von experimentellen Trypanosomenerkrankungen von Mäusen (Tr. cruzi und evansi).

Von

H. Friebel und H. Kästner.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 8. November 1954.)

In früheren Versuchen haben wir nachgewiesen, daß experimentelle Trypanosomenerkrankungen der Maus (Tr. evansi und Tr. cruzi) gut geeignet sind, um den Einfluß von Arzneimitteln (z. B. Cortison, Omnadin) auf die Infektabwehr der trypanosomeninfizierten Wirtstiere zu studieren.

Tr. evansi hält sich ausschließlich in den Körperflüssigkeiten der Maus auf. Der Verlauf der Tr. evansi-Infektion bei der Maus läßt sich so gestalten, daß es zeitweise zu einem logarithmischen Ansteigen der Parasitenzahlen im Blut kommt. Der Wirt dient ausschließlich als Kulturmedium. Bei der Übertragung von 1000000 Trypanosomen von Maus zu Maus betrug ihre Überlebenszeit etwa 63 Std. An Hand der Vermehrungsgeschwindigkeit der Parasiten im Blut und der Überlebenszeit der Wirtstiere lassen sich schon geringfügige Abweichungen vom normalen Krankheitsverlauf als Folge einer Arzneimittelbehandlung erkennen und auswerten.

Tr. cruzi befindet sich während seiner Entwicklungsphase im Warmblüter nur zeitweise im Blut. Die Entwicklung dieser Trypanosomenart vollzieht sich zu einem wesentlichen Teil in mesenchymalen Zellen. Der Verlauf der Tr. cruzi-Infektion läßt sich nicht so einfach gestalten wie der Verlauf der Tr. evansi-Infektion. Überträgt man Tr. cruzi von Maus zu Maus, so verschwinden die Parasiten zunächst aus dem Blut, befallen als Leishmaniaformen Gewebszellen des Wirts und vermehren sich dort. Etwa 4—7 Tage nach der Überimpfung erscheinen wieder schlanke Formen im Blut und erreichen dort etwa am 12.—16. Tag ihre größte Zahl, die dann wieder abfällt. Eine vorübergehende Abnahme der Trypanosomenzahlen kann man häufig auch zwischen dem 6. und 12. Tage beobachten. Während der durchschnittlich 13—21 Tage dauernden und mit dem Tod der Maus endenden Erkrankung findet der Wirtsorganismus Zeit, spezifische Abwehrmechanismen aufzubauen. Sie bremsen das Fortschreiten der Infektion ab. Bei der Infektion mit Tr. cruzi gibt daher die Zahl der im Blut nachweisbaren Trypanosomen nicht so zuverlässige Hinweise auf arzneibedingte Änderungen des Krankheitsverlaufs wie bei der Tr. evansi-Infektion. Hier ist die Überlebenszeit das entscheidende Kriterium. Andererseits lassen sich aus dem Verlauf der Tr. cruzi-Infektion gegebenenfalls Rückschlüsse auf eine arzneibedingte Beeinflussung der spezifischen Infektabwehr ziehen.

Wir haben diese Trypanosomeninfektionen herangezogen, um die Wirkung von „Megaphen“[1] auf den Verlauf der Trypanosomeninfektion zu untersuchen. Megaphen übt eine starke stoffwechselsenkende Wirkung aus. Es liegt daher nahe, eine dämpfende Wirkung auch auf Abwehrleistungen gegenüber den Infektionserregern zu erwarten (Laborit).

Methodik.

Weitere Einzelheiten der biologischen Eigenschaften der Krankheitserreger (Tr. cruzi und Tr. evansi), der Infektionsmodus, die Kontrolle des Krankheitsverlaufs und der normale Verlauf der experimentellen Trypanosomenerkrankung der Maus sind in früheren Veröffentlichungen ausführlich dargestellt worden. Bei den jetzigen Versuchen wurde ein Trypanosoma cruzi-Stamm verwandt, den wir von Dr. Fussgänger (Farbwerke Hoechst) erhalten haben, sowie ein Trypanosoma evansi-Stamm, der uns von Dr. Gönnert (Farbwerke Bayer) überlassen wurde. Aus dem Tr. evansi-Stamm haben wir eine reine Linie aufgezogen.

Der Trypanosoma cruzi-Stamm wurde durch s. c. Überimpfen von parasitenhaltigem Blut von Maus zu Maus übertragen. Die Tiere überlebten nach der Inoculierung von etwa 50000 Trypanosomen in der Regel 14—21 Tage. Einzelne Tiere lebten länger als 4 Wochen. Trypanosoma evansi wurden i.p. überimpft. Die Überlebenszeit nach der Inoculierung von etwa 1000000 Parasiten betrug 2—3 Tage.

Abweichend von den früheren Versuchen wurden Mäuse des Kopenhagener Inzuchtstammes GN, die in unserem Institut gezüchtet werden, verwandt. Infizierte Mäuse wurden während des Versuches mit Hafer/Wasser-Diät gefüttert. Alter der Tiere: 6—8 Wochen; Gewicht: 18—22 g. Es wurden ausschließlich männliche Mäuse, möglichst Geschwistertiere, verwandt. Während der Beobachtungszeit wurden sie einzeln in Glasgefäßen auf Torfmull bei Zimmertemperatur (22—24°) verwahrt.

Der Verlauf der Infektion wurde an Hand der Zahl der im Schwanzblut auftretenden Trypanosomen sowie der Überlebenszeit der Mäuse kontrolliert. Die Zählung der Parasiten wurde im dicken Tropfen oder bei größeren Parasitenzahlen in der Thomaschen Zählkammer vorgenommen.

Die Megaphensubstanz wurde s. c., in steriler physiologischer Kochsalzlösung gelöst, verabreicht. Das injizierte Flüssigkeitsvolumen betrug, soweit keine anderweitigen Angaben gemacht werden, pro Injektion 0,5 cm³. Kontrolltiere, die kein Arzneimittel erhielten, wurden mit dem gleichen Volumen steriler physiologischer Kochsalzlösung behandelt.

Temperaturmessungen wurden mit dem „Thermorapid“ der Medeorwerke, Hamburg, vorgenommen. Der Temperaturfühler wurde jeweils 1,8 cm tief in den Enddarm eingeführt. 10 sec nach dem Einführen wurde die Temperatur abgelesen.

Versuche und Ergebnisse.

I. Der Einfluß wiederholt gegebener kleiner Megaphendosen auf den Krankheitsverlauf (Tr. cruzi-Infektion).

Infektion der Mäuse mit annähernd 60000 Trypanosoma cruzi. In mehreren Einzelversuchen wurden täglich 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg und 5 mg Megaphen/kg Maus subcutan verabreicht.

[1] Megaphen ist identisch mit „Largactil“, dem N-(3′-Dimethylamino)-propyl-3-chlorphenothiazin.

Tabelle 1. *Das Verhalten der Trypanosomenzahlen im Blut und die Absterbezeiten infizierten*

Maus Nr.	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag
1	D.T.+	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	1000	1000	1000	3000
2	D.T.⌀	D.T.⌀	D.T.+	2000	1000	1000	1000	4000
3	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	2000	1000	1000	3000	11000
4	D.T.⌀	D.T.⌀	D.T.+	1000	2000	1000	1000	3000
5	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000	D.T.+	1000	1000
6	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	1000	1000	2000	5000	3000
7	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	2000	3000	4000	6000	12000
8	D.T.⌀	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	1000	2000	1000	3000
9	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000	3000	2000	5000	13000
10	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	1000	6000	3000	1000	5000
11 K	D.T.⌀	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	1000	D.T.+	4000	3000
12 K	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000
13 K	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000	5000	7000	11000
14 K	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000	1000	1000
15 K	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	2000	1000
16 K	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000	1000
17 K	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D T.+	D.T.+	4000	5000	11000
18 K	D.T.+	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000	1000
19 K	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.+	1000
20 K	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.+	2000	1000	6000	19000

Auf der Senkrechten sind mit den Nummern 1—10 die 2mal täglich mit 0,5 mg/kg Megaphen s. c. behandelten Mäuse bezeichnet. Kontrolltiere, die lediglich physiologische Kochsalzlösung erhielten, führen die Nummern 11 K bis 20 K. Auf der Waagerechten sind die Tage angegeben, die nach der Infektion mit 64000 Tr.

von Mäusen, die mit Megaphen behandelt wurden, im Vergleich zu nicht behandelten Kontrolltieren.

12. Tag	13. Tag	14. Tag	15. Tag	16. Tag	17. Tag	18. Tag	19. Tag	20. Tag
3000	5000	6000	tot vorgefund.					
6000	4000	1000 gestorb.						
11000	8000	18000	tot vorgefund.					
3000	2000	2000 gestorb.						
2000	1000	1000	D.T.⌀	tot vorgefund.				
5000	17000	5000 gestorb.						
20000	15000	tot vorgefund.						
6000	3000	3000	2000	tot vorgefund.				
19000	24000	tot vorgefund.						
18000	17000	7000 gestorb.						
1000	2000	3000	10000	11000	tot vorgefund.			
1000	1000	5000	D.T.+	tot vorgefund.				
14000	tot vorgefund.							
D.T.+	1000	1000	D.T.⌀	D.T.⌀	tot vorgefund.			
1000	1000	1000	3000	1000	D.T.+	D.T.+	1000	D.T.+
D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	1000	D.T.+	D.T.+	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+
2000	D.T.+	4000	7000	tot vorgefund.				
D.T.+	7000	1000	1000	1000	D.T.+	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+
1000	D.T.+	D.T.+	D.T.+	D.T.⌀	D.T.+	D.T.+	D.T.⌀	D.T.+
13000	tot vorgefund.							

cruzi abgelaufen sind. D.T.⌀ bedeutet: Im dicken Tropfen des Schwanzblutes keine Trypanosomen (20 Blickfelder). D.T.+: Im dicken Tropfen Trypanosomen positiv. Zahlen geben die in der Zählkammer ermittelten Trypanosomen im mm³ Schwanzblut an. Sonstige Erläuterung im Text.

1. Serie:

10 Mäuse wurden mit je 64500 Trypanosomen infiziert, sie erhielten 2mal täglich 0,5 mg/kg Megaphen subcutan. 10 Kontrolltiere, auf die gleiche Weise infiziert, erhielten ein entsprechendes Flüssigkeitsvolumen physiologischer Kochsalzlösung. Der Anstieg der Parasitenzahlen im Schwanzblut geht aus der Tab. 1 hervor.

Am 4. Tage nach der Infektion und Megaphenbehandlung wurden bei 3 von 10 Tieren Parasiten im dicken Tropfen gefunden, am 5. Tage hatten 6 Tiere, am 6. Tage alle Tiere einen positiven Blutbefund. Am 8. Tage wurden bei allen Mäusen 1000—6000 Trypanosomen im mm^3 Schwanzblut gezählt. Am 13. Tage hatten 6 von 10 Mäusen 1000—8000 Trypanosomen im mm^3 Blut, die übrigen 4 mehr als 10000. Diese 4 Tiere starben am 14. Tag oder wurden tot vorgefunden. Von den Kontrolltieren waren am 4. Tag nach der Infektion 2 Mäuse, am 5. Tag 8 Tiere, am 6. Tag alle Tiere im dicken Tropfen positiv. Am 11. Tag hatten alle Mäuse 1000—19000 Trypanosomen im Blut. Am 12. Tag hatten 2 Mäuse mehr als 10000 Trypanosomen, sie starben am 13. Tag. Bei 3 der restlichen Tiere war am 12. Tag die Trypanosomenzahl wieder abgefallen. Sie hatten weniger als 1000 Trypanosomen in 1 mm^3 Blut. Keine Maus hatte jetzt mehr als 7000 Trypanosomen. Am 14. Tag ereigneten sich keine weiteren Todesfälle.

Aus Tab. 1 geht hervor, daß die vorübergehende Reduktion der Trypanosomenzahlen im Schwanzblut, die in der Kontrollserie nach dem 11. Krankheitstage bei einer Reihe von Tieren auftrat, in der mit Megaphen behandelten Serie *nicht* beobachtet wurde. Parasitenzahlen über 10000 im mm^3 traten in der Megaphenserie häufiger auf. Bis zum 14. Tage erlag eine größere Zahl von megaphenbehandelten Tieren der Infektion als in der Kontrollserie.

2. Serie:

20 Mäuse, infiziert mit je 56660 Trypanosomen; 2mal täglich mit 1 mg/kg Megaphen behandelt. 20 Kontrolltiere wie in Serie 1. Aus Tab. 2 geht hervor, daß die Megaphenbehandlung eine Verkürzung der Überlebenszeit im Vergleich zu den Kontrollmäusen zur Folge hatte. Eine Rückläufigkeit der Trypanosomenzahlen im Schwanzblut wurde zwar bei 4 Kontrollmäusen, aber nicht bei den megaphenbehandelten Mäusen beobachtet.

3. Serie:

10 Mäuse, infiziert mit je 64500 Trypanosomen; 2mal täglich mit 1,5 mg/kg Megaphen behandelt. 10 Kontrolltiere wie vorher. Aus der Tab. 3 geht hervor, daß nach Megaphen die Überlebenszeit der infizierten Tiere verkürzt ist.

4. Serie:

10 Mäuse, mit 71200 Trypanosomen infiziert; 2mal täglich mit 2 mg/kg Megaphen behandelt. Kontrolltiere wie Serie 1. Aus Tab. 4 geht hervor, daß nach Megaphen die Überlebenszeit der Mäuse verkürzt wird. Eine Rückläufigkeit der Trypanosomenzahlen wurde bei einer mit Megaphen behandelten Maus gesehen. In der Kontrollserie hatten sie 3 Tiere.

5. Serie:

10 Mäuse, infiziert mit 50000 Trypanosomen; 2mal täglich mit 2,5 mg/kg Megaphen behandelt. 10 Kontrolltiere. Tab. 5: Kein wesentlicher Unterschied in der Überlebenszeit von megaphenbehandelten und Kontrolltieren. Der Anstieg der Trypanosomenzahlen erfolgte in beiden Gruppen ziemlich gleichmäßig. Die Megaphentiere hatten etwas geringere Trypanosomenzahlen.

Zusammengefaßt ergibt sich, daß tägliche Gaben von 1—4 mg/kg Megaphen die Überlebenszeit von trypanosomeninfizierten Mäusen (Tr. cruzi) verkürzen. Dieser Effekt tritt am 12., 14. und 16. Tag nach der Infektion besonders deutlich in Erscheinung. Tab. 6: Überlebenszeiten aller 60 mit Megaphen behandelten Mäuse und aller 60 Kontrolltiere.

Am 14. und 16. Tag nach der Infektion ist also ein wesentlich höherer Prozentsatz von megaphenbehandelten Tieren vorzeitig gestorben. Die Differenz gegenüber der Kontrollgruppe liegt außerhalb des Zufallsbereiches (Überschreitungswahrscheinlichkeit = 0,27%). Zusätzlich geht aus den Tab. 1, 2, 3 und 5 hervor, daß eine größere Zahl von Kontrolltieren nach dem 10. Krankheitstag vorübergehend rückläufige Trypanosomenzahlen im Blut hatte als megaphenbehandelte Mäuse. Im Dosisbereich von 1—4 mg/kg beeinflußt Megaphen mit Sicherheit den Ablauf der Trypanosoma cruzi-Infektion im ungünstigen Sinne.

Tabelle 2
(entspr. Tab. 1 in abgekürzter Form).

Tag nach Infekt.	Dicker Tropfen		Trypanosomen in 1 mm³		tot
	neg.	pos.	10^3	10^4	
4.	18	2			
	10	10			
6.	1	19			
	3	17			
8.		7	13		
		6	14		
10.			20		
		1	18	1	
12.		17	3		
		18	2		
14.			7	6	7
		2	12	4	2
16.			5	1	14
		4	7	1	8
18.			3		17
		4	4		12
20.			2		18
		2	5		13

Infektion mit 56600 Tr. cruzi; Megaphen 2mal täglich 1 mg/kg s. c. Die obere Zahl in jedem Kästchen gibt die Anzahl der megaphenbehandelten Mäuse, die untere Zahl die Anzahl unbehandelter Kontrolltiere an. Früher einsetzende Mortalität bei megaphenbehandelten Mäusen.

Bei 5 mg/kg tritt wohl eine Angleichung der Überlebenszeit megaphenbehandelter Mäuse an die der Kontrolltiere ein. Für dieses eigenartige Verhalten konnte zunächst keine Erklärung gegeben werden. Man kann vermuten, daß höhere Megaphendosen, die eine Temperatursenkung bei

der Maus hervorrufen, zugleich eine Entwicklungshemmung der Trypanosomen bedingen, so daß die zum Tode des Wirts führende Überschwemmung des Wirtsorganismus mit Trypanosomen und tödliche trypanosomenbedingte Gewebszerstörungen hinausgezögert werden. Der Verlauf der Trypanosomeninfektion unter dem Einfluß höherer Megaphendosen wurde daher in weiteren Versuchen studiert.

Tabelle 3
(entspr. Tab. 1 in abgekürzter Form).

Tag nach Infekt.	Dicker Tropfen		Trypanosomen in 1 mm³		tot
	neg.	pos.	10^3	10^4	
4.	3	7			
	9	1			
6.		10			
		10			
8.		3	7		
		8	2		
10.			9	1	
			10		
12.			5	3	2
			8	2	
14.			3		7
			8	2	
16.		1			9
			3	1	6
18.					10
			1		9
20.					10
					10

Infektion mit 64500 Tr. cruzi; Megaphen 2mal täglich 1,5 mg/kg s. c. Früher einsetzende Mortalität bei den megaphenbehandelten Mäusen.

Dabei waren wir allerdings gezwungen, auf die Verwendung von Tr. cruzi als Testobjekt zu verzichten und Tr. evansi zu verwenden. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß die Behandlung *nicht*-infizierter Mäuse mit täglichen hohen Megaphengaben (30, 60, 90, 120 mg/kg) den Tod der Mäuse zwischen dem 2. bis 7. Behandlungstag zur Folge hat. Demzufolge mußte für das Studium der Wirkung von hohen Megaphendosen auf die Infektion der Krankheitsverlauf so eingerichtet werden, daß die Mäuse nach kürzerem Krankheitsverlauf als in den vorhergehenden Versuchen der Infektion erlagen. Nur unter diesen Umständen konnten arzneibedingte Todesfälle abgegrenzt werden. Trypanosoma evansi führt rasch zum Tode.

II. Der Einfluß wiederholt gegebener großer Megaphendosen auf den Krankheitsverlauf (Tr. evansi-Infektion).

Infektion der Mäuse in mehreren Einzelversuchen mit etwa 1000000 Tr. evansi. Tägliche subcutan verabreichte Megaphengaben von 15 bis 120 mg/kg in 6 Einzeldosen (Tab. 7).

In der Tab. 8 wird am Beispiel von 20 unbehandelten Kontrolltieren (Serien 1b, 1c, 1g) in den ersten senkrechten Spalten der Anstieg der Parasitenzahlen im Schwanzblut der Mäuse vom 1. bis zum 2. Tage nach der Infektion gezeigt. Aus den folgenden Spalten ist der Anstieg der

Parasitenzahlen bei Tieren ersichtlich, die mit Megaphen behandelt wurden. Bei mehr als 15 mg/kg kam es zur Verlängerung der Zeit, die zur Verdoppelung der Trypanosomenzahlen benötigt wird, schließlich zum Stillstand oder sogar zum Rückgang der Parasitenzahlen.

Die Behandlung trypanosomeninfizierter Mäuse mit hohen Megaphendosen hemmt also das Ansteigen der Trypanosomenzahlen im Blut.

Für diese Hemmung kommen als Ursache in Frage:

1. Die Entwicklung oder Teilungsgeschwindigkeit der Trypanosomen wird durch eine *direkte* chemotherapeutische Wirkung des Megaphens auf die Parasiten gehemmt.

2. Die Verdoppelungszeit der Trypanosomen wird verlängert, weil ihr *Kulturmedium* (die Maus) durch Megaphen in einer für sie unphysiologischen Weise verändert wird (z. B. durch Herabsetzung der Temperatur).

Tabelle 4
(entspr. Tab. 1 in abgekürzter Form).

Tag nach Infekt.	Dicker Tropfen		Trypanosomen in 1 mm³		tot
	neg.	pos.	10^3	10^4	
4.	8	2			
	9	1			
6.	4	6			
		10			
8.		1	9		
		9	1		
10.		1	6	3	
			10		
12.			6	2	2
			8	2	
14.		1			9
			7	3	
16.		1			9
			4	1	5
18.		1			9
	1	1	1		7
20.		1			9
	1	2			7

Infektion mit 71200 Tr. cruzi; Megaphen 2 mal täglich 2 mg/kg s. c. Früher einsetzende Mortalität bei den mit Megaphen behandelten Mäusen.

Die weiteren Versuche dienen der Aufklärung dieser Verhältnisse. Wir studierten zunächst den *Einfluß der Körpertemperatur des Wirtstieres auf den Anstieg der Trypanosomenzahlen.* Er kann auf relativ einfache Weise geprüft werden.

Die Beurteilung des Temperatureinflusses auf die Trypanosomenvermehrung setzte die Kenntnis der normalen Körpertemperatur der Mäuse, der Temperatur im infizierten Zustand, der Abhängigkeit der Temperatur von physikalischen und chemischen Einflüssen voraus.

1a) Die Körpertemperatur gesunder und trypanosomeninfizierter Mäuse bei Raumtemperaturen von 22—24° und 10°.

1. Die normale Körpertemperatur von gesunden Mäusen, bei 22—24° gehalten, rectal gemessen (Einführen des Temperaturfühlers 1,8 cm tief in den Enddarm) betrug 37,8° ($\sigma = \pm 0{,}8$, $\sigma_M = 0{,}03$) (Durchschnittswerte von 594 Mäusen).

2. Unter dem Einfluß kühler Raumtemperatur sank die Körpertemperatur der Mäuse sehr langsam, aber beständig ab. Ein außerhalb des Zufallsbereiches liegender Abfall wurde erstmalig nach 6 Std beobachtet. Nach 49stündigem Aufbewahren bei 10° betrug die Differenz gegenüber dem Mittelwert der Normaltemperatur 2° (Tab. 9).

3. Die mittlere Körpertemperatur von 20 Mäusen vor und während der Infektion mit 1012000 Tr. evansi (Raumtemperatur 22—24°) sowie von weiteren 20 infizierten Tieren bei 10° Außentemperatur sind in Tab. 10 zusammengefaßt. Die Körpertemperatur wurde weder durch die Trypanosomeninfektion noch durch verschiedene Raumtemperatur (22—24° bzw. 10°) wesentlich beeinflußt. Es kam in beiden Versuchsreihen 1 Std nach Versuchsbeginn zu einem sicheren Temperaturabfall ($\varepsilon = 0{,}27\%$) von höchstens 1,3°, der bis zum Ende des Versuchs bestehen blieb.

Tabelle 5
(entspr. Tab. 1 in abgekürzter Form).

Tag nach Infekt.	Dicker Tropfen		Trypanosomen in 1 mm³		tot
	neg.	pos.	10^3	10^4	
4.	8	2			
	8	2			
6.	3	7			
		10			
8.		10			
		8	2		
10.		3	7		
			10		
12.		2	8		
			9	1	
14.			9		1
			3	7	
16.			4		6
			2	4	4
18.		1			9
					10
20.					10
					10

Infektion mit 50000 Tr. cruzi; Megaphen 2mal täglich 2,5 mg/kg s. c. Keine wesentlichen Differenzen der Überlebenszeit in beiden Gruppen.

1b) Einfluß von kurzfristig verabreichtem Megaphen auf die Temperatur gesunder und infizierter Mäuse.

Gesunde und infizierte Mäuse wurden in Gruppen zu 20 Tieren 3 Tage lang mit 7,5; 15; 30; 60; 90 oder 120 mg/kg Megaphen pro die, unterteilt in 6 Einzeldosen, behandelt und bei 22—24° bzw. 10° gehalten. Die Mittelwerte der bei diesen Tieren gemessenen Rectaltemperaturen sind in Tab. 11 zusammengefaßt.

7,5 mg/kg Megaphen verursachte bei gekühlten Mäusen eine geringe gesicherte Senkung der Temperatur (nach 1—30 Std). Nach 15 mg/kg Megaphen kam es bei 6 von 20 infizierten, im Kühlschrank verwahrten Mäusen nach durchschnittlich 30 Std zu einem so weitgehenden Absinken der Körpertemperatur, daß die Mäuse starben. Bei 9 der restlichen Tiere wurde die Temperatur von 35° selbst nach 4tägiger ununterbrochener

Behandlung nicht unterschritten. Ähnliche Verhältnisse wurden bei infizierten Mäusen gefunden. Die gleiche Megaphendosis führte sowohl

Tabelle 6. *Zusammenfassung der Ergebnisse (Mortalität) aus den Tab. 1—5.*

Tag nach Infekt.	1 mg/kg 10 Mäuse	2 mg/kg 20 Mäuse	3 mg/kg 10 Mäuse	4 mg/kg 10 Mäuse	5 mg/kg 10 Mäuse	Megaphen	Kontrollen	
12.			2	2		4		
			20%	20%		6,7%		
14.	6	7	7	9	1	30	4	stat. gesich. Diff.
	60%	35%	70%	90%	10%	50%	6,7%	
16.	10	14	9	9	6	48	4	stat. gesich. Diff.
	100%	70%	90%	90%	60%	80%	6,7%	
18.		17	10	9	9	55	44	
		85%	100%	90%	90%	92%	73%	
20.		18		9	10	57	46	
		90%		90%	100%	95%	77%	

Die mit verschiedenen Megaphendosen erhaltenen Ergebnisse (Spalte 1—5) sind in der 6. Spalte summiert worden. Zum Vergleich werden in der 7. Spalte die bei den Kontrollen erhaltenen Werte summarisch aufgeführt.

Tabelle 7.
Übersicht über die unter A. durchgeführten Versuche.

Nr. der Serie	Zahl der Versuchstiere	Zahl der inoculierten Trypanosomen	Tägliche Megaphendosen (unterteilt in Einzelgaben)
1a	16	1012000	—
b	9	990000	—
c	3	1095000	—
d	3	1039000	—
e	5	1015000	—
f	5	1012000	—
g	10	1028000	—
2	20	1216000	15 mg/kg
3a	20	1015000	30 mg/kg
b	10	990000	30 mg/kg
4a	20	1015000	60 mg/kg
b	10	990000	60 mg/kg
5a	20	1012000	90 mg/kg
b	10	990000	90 mg/kg
6a	20	1012000	120 mg/kg
b	10	990000	120 mg/kg

bei infizierten als auch bei nichtinfizierten Mäusen, wenn sie bei 22—24° verwahrt wurden, zu einer wesentlich geringeren Temperatursenkung.

Tabelle 8. *Abhängigkeit des Anstiegs der Trypanosomen-*

Maus Nr.	unbehandelt			15 mg/kg Megaphen			30 mg/kg Megaphen		
	24 Std nach der Infektion	48 Std nach der Infektion	Verdoppelungszeit in Std	24 Std nach der Infektion	48 Std nach der Infektion	Verdoppelungszeit in Std	24 Std nach der Infektion	48 Std nach der Infektion	Verdoppelungszeit in Std
1.	14000	550000	4,532	10000	498000	4,257	4000	16000	12,0
2.	16000	556000	4,691	12000	420000	4,680	2000	3000	41,03
3.	11000	596000	4,170	16000	812000	4,239	7000	26000	12,67
4.	23000	710000	4,851	21000	1036000	4,267	4000	5000	74,55
5.	16000	802000	4,250	22000	886000	4,502	6000	34000	9,59
6.	13000	748000	4,105	23000	1098000	4,305	2000	14000	8,545
7.	19000	640000	4,744	22000	880000	4,510	5000	21000	11,59
8.	9000	600000	3,963	19000	782000	4,797	1000	7000	8,545
9.	23000	700000	4,871	16000	674000	4,448	6000	21000	13,28
10.	19000	792000	4,460	5000	160000	4,801	5000	7000	49,44
11.	20000	1082000	4,170	13000	602000	4,339	4000	3000	57,85
12.	18000	912000	4,239	16000	750000	4,326	2000	6000	15,14
13.	17000	804000	4,313	10000	780000	3,818	1000	3000	15,14
14.	31000	1280000	4,471	14000	632000	4,367	1000	D.T.+	
15.	26000	1008000	4,548	20000	1034000	4,219	1000	5000	10,34
16.	20000	1152000	4,105	14000	760000	4,166	8000	344000	4,424
17.	19000	1130000	4,072	8000	600000	3,853	8000	153000	5,64
18.	21000	974000	4,336	12000	812000	3,947	1000	31000	4,846
19.	24000	1260000	4,201	10000	524000	4,204	11000	216000	5,588
20.	14000	450000	4,794	7000	538000	3,832	6000	233000	4,545

Mittelwert der Verdoppelungszeiten der Trypanosomen bei insgesamt 51 Mäusen:
$M = 4{,}394\ (= M_{Kontr.})$
$\sigma = 0{,}520$
$\sigma_M = 0{,}0728$

Mittelwert der Verdoppelungszeiten der Trypanosomen bei insgesamt 20 Mäusen:
$M = 4{,}294$
$(= M_{15\text{ mg Megaphen}})$
$\sigma = 0{,}2874$
$\sigma_M = 0{,}0643$

$M_{Kontr.} - M_{15\text{ mg Megaphen}} = 0{,}100$
$\sigma_{Diff.} = 0{,}098$
$3 \cdot \sigma_{Diff.} = 0{,}294$

Nach 30 mg/kg Megaphen fiel die Temperatur bei allen im Kühlschrank verwahrten gesunden Mäusen so weit ab, daß am 2. Behandlungstag 19 von 20 Mäusen gestorben waren. Dieselbe Dosis hatte bei Mäusen, die bei 22—24° verwahrt wurden, am dritten Tag nur 2 Todesfälle zur Folge. Die Mehrzahl der Tiere starb erst am fünften Behandlungstage. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei infizierten Mäusen erhalten.

zahlen von der Megaphenbehandlung.

60 mg/kg Megaphen			90 mg/kg Megaphen			120 mg/kg Megaphen		
24 Std nach der Infektion	48 Std nach der Infektion	Verdoppelungszeit in Std	24 Std nach der Infektion	48 Std nach der Infektion	Verdoppelungszeit in Std	24 Std nach der Infektion	48 Std nach der Infektion	Verdoppelungszeit in Std
1000	1000	—	1000	1000	—	D.T.+	D.T.+	—
D.T.+	D.T.∅	—	D.T.+	D.T.+	—	2000	D.T.+	—
D.T.+	D.T.+	—	1000	2000	24	D.T.+	D.T.+	—
D.T.+	1000	—	D.T.+	D.T.+	—	D.T.+	1000	—
1000	1000	—	D.T.+	3000	—	D.T.+	D.T.+	
D.T.+	D.T.+	—	D.T.+	1000	—	D.T.+	1000	—
D.T.+	D.T.+	—	D.T.+	tot	—	2000	D.T.+	—
1000	D.T.+	—	D.T.+	2000	—	1000	D.T.+	—
2000	9000	11,06	D.T.+	D.T.+	—	D.T.+	tot	—
4000	48000	6,694	D.T.+	1000	—	D.T.+	D.T.+	—
2000	D.T.+	—	1000	2000	24	1000	D.T.+	—
D.T.+	4000	—	D.T.+	D.T.+	—	1000	D.T.+	—
1000	3000	15,14	D.T.+	2000	—	D.T.+	1000	
1000	1000	—	1000	D.T.+	—	2000	D.T.+	—
1000	3000	15,14	D.T.+	1000	—	D.T.+	D.T.+	
D.T.+	2000	—	D.T.+	1000	—	1000	D.T.+	—
1000	1000	—	D.T.+	D.T.+	—	D.T.+	tot	—
1000	2000	24	D.T.+	D.T.+	—	D.T.+	D.T.+	—
1000	1000	—	1000	D.T.+	—	D.T.+	D.T.+	—
D.T.+	D.T.+	—	D.T.+	1000	—	1000	D.T.+	—

Die Anzahl der im Blut infizierter Mäuse nachweisbaren Trypanosomen verdoppelt sich bei unbeeinflußtem Krankheitsverlauf alle 4,39 Std. Die Injektion von 15 mg/kg Megaphen in 6 Einzeldosen bleibt ohne Einfluß auf den Anstieg der Parasitenzahlen. Bei höheren Dosen (30, 60, 90, 120 mg/kg) wird die Zunahme der Parasiten gehemmt und schwindet schließlich ganz.

Ähnliche Ergebnisse wurden nach 60, 90 und 120 mg/kg Megaphen erhalten. Die Steigerung der Megaphendosis hatte keine nennenswert erhöhte Mortalität zur Folge.

1c) Einfluß von langfristig verabreichtem Megaphen auf die Temperatur: Vgl. Diagramm.

Nach wiederholten Megaphengaben tritt (im angegebenen Dosisbereich) eine Gewöhnung ein.

1d) Einfluß von Pyramidon sowie gleichzeitig verabreichtem Pyramidon + Megaphen auf die Temperatur gesunder und infizierter Mäuse.

Gesunde und infizierte Mäuse wurden in Gruppen zu 20 Tieren mit 225 und 450 mg/kg Pyramidon pro die, unterteilt in 6 Einzeldosen,

behandelt. Weiterhin wurde Pyramidon zusammen mit Megaphen gegeben. Die Mittelwerte der bei diesen Tieren gemessenen Rectaltemperaturen (Raumtemperatur 10°) sind in Tab. 12 zusammengefaßt.

Pyramidon in der Dosierung von 225 bzw. 450 mg/kg hatte keine wesentliche Temperatursenkung zur Folge. Wurden diese Pyramidon-

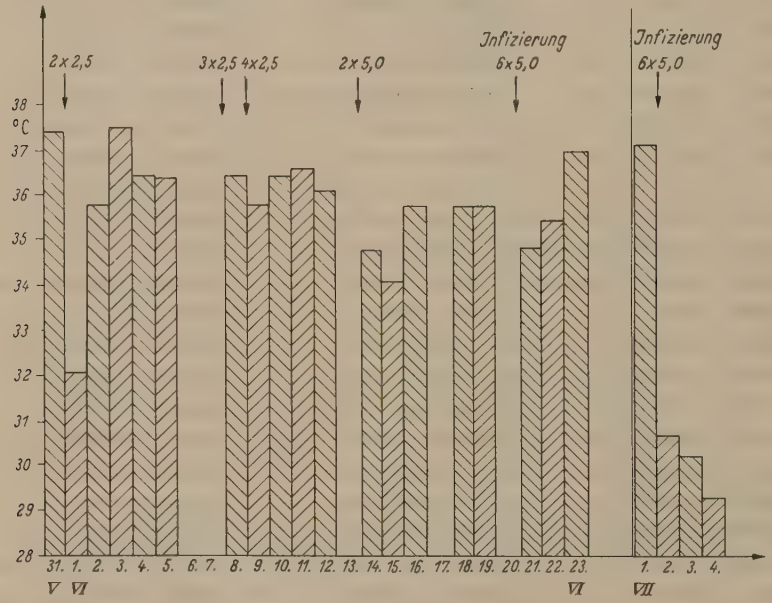


Abb. 1. *Einfluß häufig wiederholter Megaphengaben auf die Temperatur.* Die Kolumnen geben Mittelwerte der Temperatur von je 20 Mäusen an, die jeweils 1 Std nach der s. c. Megapheninjektion rectal gemessen wurden. Die Pfeile geben den Zeitpunkt und die Dosierung der Megaphenbehandlung an. Infizierung mit Trypanosomen am 21. Tag. Rechts abgesetzt ein Kontrollversuch mit Mäusen, die $6 \times 5{,}0$ mg/kg Megaphen ohne Vorbehandlung erhalten haben. Der Temperaturabfall nach $6 \times 5{,}0$ mg/kg Megaphen ist nur bei nichtadaptierten Mäusen deutlich. (Raumtemperatur.)

mengen zusammen mit 7,5 bzw. 15 mg/kg Megaphen gegeben, so kam es zu wesentlich tieferen Temperaturen als nach 7,5 bzw. 15 mg/kg Megaphen. Die temperatursenkende Wirkung von Megaphen wurde also erheblich verstärkt.

Tabelle 9. *Verhalten der Körpertemperatur von 20 gesunden Mäusen bei 10° Raumtemperatur.*

Normal-temperatur	Stunden im Kühlschrank (10°)				
	1	6	25	30	49
38,2° (±0,7°)	37,8° (±0,7°)	37,0° (±0,8°)	36,5° (±0,9°)	36,4° (±0,9°)	36,2° (± 1,0°)

(Beschreibung im Text.)

Zur weiteren Sicherung des Befundes, daß gleichzeitige Gaben von Pyramidon und Megaphen zu einer erheblich stärkeren Temperatursenkung führen als jede Substanz für sich allein, wurden zusätzlich Versuche durchgeführt, bei denen die Arzneimittel gesunden Mäusen einmalig verabreicht wurden. Zusammenfassung der Ergebnisse in Tab. 13.

Die Verstärkung der temperatursenkenden Wirkung von Megaphen durch Pyramidon lag außerhalb des Zufallsbereiches, wenn 2,5 mg/kg Megaphen + 50 oder 75 mg/kg Pyramidon verabreicht wurde ($\varepsilon = 0{,}27\%$). Der temperatursenkende Effekt setzte sich mit der Wiederholung der Injektionen in immer stärkerem Maße durch.

Mit Hilfe der unter 1a—1d erhaltenen Ergebnisse kann die anfangs aufgeworfene Frage beantwortet werden: Ist die Hemmung der regelrechten Trypanosomenvermehrung in megaphenbehandelten Mäusen eine Folge der arzneimittelbedingten Temperatursenkung? Die hierfür notwendige Gegenüberstellung der Trypanosomenzahlen und Meßwerte der Körpertemperatur wird in den folgenden Abschnitten 2a—2d gebracht.

2a. Über den Zusammenhang zwischen der Temperatursenkung nach Megaphen und dem Verhalten der Trypanosomenzahlen orientiert die Tab. 14. Es werden charakteristische Einzelergebnisse von je 5 mit 30, 60, 90 und 120 mg/kg Megaphen behandelten und bei 22—24° verwahrten Mäusen wiedergegeben. Aus den Spalten kann abgelesen werden, daß zugleich mit der megaphenbedingten Senkung der Körpertemperatur auch die Zunahme der Trypanosomenzahlen im Blut gebremst wird.

2b. Tab. 15 zeigt entsprechende Befunde bei Mäusen, die bei 10° verwahrt wurden.

Bei 10° Raumtemperatur und 15 mg/kg Megaphen wurde auf die Trypanosomenpopulation ein ähnlicher Effekt ausgeübt wie bei 22—24° Raumtemperatur und 30 mg/kg Megaphen. Das Ergebnis beweist eine stärkere Abhängigkeit des Verhaltens der Trypanosomenzahlen von der Körpertemperatur der Mäuse als von der Größe der verabreichten Megaphendosis.

Tabelle 10. *Körpertemperatur trypanosomenkranker Mäuse.*

Zahl d. Mäuse	Raumtemperatur	Normaltemperatur	Stunden nach Infizierung 1	6	25	30	49
38	22—24°	38,1° (± 0,7°)	36,9° (± 0,7°)	36,8° (± 0,3°)	37,3° (± 0,6°)	37,0° (± 0,5°)	37,2° (± 0,7°)
43	10°	38,6° (± 0,5°)	36,9° (± 0,5°)	36,4° (± 0,9°)	37,1° (± 1,1°)	37,4° (± 0,7°)	37,3° (± 0,9°)

Tabelle 11. *Körpertemperatur gesunder und trypanosomenkranker Mäuse bei Megaphenbehandlung.*

Megaphen mg/kg	Normaltemperatur	Stunden nach Behandlungsbeginn bei 22—24° Raumtemperatur					
		1	6	25	30	49	54
15	37,5° (± 0,7°)	35,6° (± 2,2°)	35,4° (± 1,3°)	35,6° (± 1,7°)	36,3° (± 3,0°)	35,1° (± 1,4°)	35,0° (± 2,2°)
	37,9° (± 0,6°)	32,5° (± 2,1°)	35,6° (± 1,3°)	36,1° (± 0,8°)	36,2° (± 0,6°)	36,1° (± 0,6°)	35,5° (± 0,7°)
30	37,5° (± 0,6°)	30,9° (± 2,0°)	31,8° (± 1,9°)	26,3° (± 3,0°)	26,4° (± 4,2°)	22,5° (± 4,7°)	23,6° (± 4,5°)
	37,1° (± 0,4°)	30,7° (± 1,4°)	32,4° (± 1,2°)	30,2° (± 3,5°)	31,4° (± 3,4°)	29,2° (± 6,7°)	29,3° (± 6,5°)
60	37,4° (± 0,5°)	29,8° (± 1,7°)	28,0° (± 2,2°)	24,6° (± 2,3°)	25,1° (± 3,5°)	21,4° (± 0,8°)	22,7° (± 1,1°)
	36,9° (± 0,3°)	29,8° (± 1,8°)	29,8° (± 2,1°)	26,1° (± 2,1°)	26,1° (± 2,3°)	23,2° (± 2,8°)	23,1° (± 3,0°)
90	37,8° (± 0,4°)	30,3° (± 1,3°)	28,7° (± 2,0°)	25,0° (± 1,9°)	25,2° (± 1,6°)	21,8° (± 0,5°)	22,8° (± 0,8°)
	37,0° (± 0,3°)	29,6° (± 1,4°)	23,8° (± 0,9°)	22,6° (± 3,2°)	21,9° (± 0,5°)	21,7° (± 0,5°)	21,1° (± 0,4°)
120	37,3° (± 0,5°)	30,0° (± 1,7°)	27,1° (± 1,7°)	23,0° (± 0,8°)	23,5° (± 1,0°)	21,7° (± 0,8°)	22,7° (± 0,9°)
	37,1° (± 0,5°)	29,7° (± 2,2°)	23,6° (± 1,0°)	23,0° (± 0,4°)	22,2° (± 0,8°)	22,7° (± 0,6°)	21,2° (± 0,5°)
				bei 10° Raumtemperatur			
7,5	38,5° (± 0,3°)	35,3° (± 1,3°)	34,7° (± 1,1°)	35,2° (± 0,8°)	36,8° (± 1,5°)	37,7° (± 0,8°)	
	37,9° (± 0,6°)	36,3° (± 1,4°)	35,5° (± 1,7°)	36,0° (± 1,5°)	37,3° (± 0,5°)	37,1° (± 0,5°)	
15	38,5° (± 0,5°)	33,2° (± 3,5°)	33,4° (± 3,7°)	32,1° (± 6,5°)	31,3° (± 8,3°)		
	38,1° (± 1,3°)	32,7° (± 3,2°)	34,8° (± 1,5°)	31,8° (± 5,9°)	30,8° (± 7,6°)	32,7° (± 7,6°)	31,4° (± 6,2°)
30	37,0° (± 0,4°)	27,3° (± 1,8°)	24,5° (± 7,1°)[1]				
	37,1° (± 0,5°)	26,2° (± 2,5°)	25,3° (± 5,6°)[2]				

[1] Mittelwert von 15 der 20 Mäuse. 5 hatten Temperaturen unter 15,5°, die nicht genau gemessen werden konnten.
[2] Mittelwert von 18 der 20 Mäuse. 2 hatten Temperaturen unter 15,5°.

In den Spalten der Tabelle sind jeder Megaphendosis 2 Temperaturwerte zugeordnet. Der obere Wert wurde bei gesunden Mäusen, der untere Wert bei infizierten Mäusen gemessen. Weitere Erläuterungen im Text.

2c. Nach 7,5 mg/kg Megaphen + 450 mg/kg Pyramidon (10°) kam es bei 3 von 19 Mäusen zu einem verzögerten Anstieg der Trypanosomenzahlen (Tab. 16). Demgegenüber verzögerten 7,5 mg/kg Megaphen, für sich allein gegeben, den Anstieg der Trypanosomenzahlen nicht. (Das Abfallen der Temperatur, nicht etwa die Infektion mit Trypanosomen, hatte den Tod einzelner Mäuse am 2. Tag nach der Infizierung zur Folge.) Auch unter diesen Versuchsbedingungen, also bei relativ geringeren Megaphengaben, wurde ein Parallelgehen von Körpertemperatur und Trypanosomenzahlen im Blut beobachtet.

Dieses letzte Ergebnis beweist in noch stärkerem Maße als das der vorhergehenden Versuche (Tab. 14 und 15), daß der Anstieg der Trypanosomenzahlen im wesentlichen von der Höhe der Körpertemperatur ihrer Wirtstiere abhängt. Megaphen übte keinen erkennbaren unmittelbaren Einfluß auf die Parasitenzahlen aus.

2d. Die unter 2a—2c gebrachten Befunde über das Fehlen einer unmittelbaren Megaphenwirkung auf das Verhalten der Trypanosomenzahlen wurden

Tabelle 12. *Körpertemperatur gesunder und infizierter Mäuse bei Behandlung mit Megaphen und Pyramidon.*

Zahl der Versuchstiere	Medikamentdosis mg/kg	Normaltemperatur	Stunden nach Behandlungsbeginn bei 16° Raumtemperatur									
			1		6		25		30		49	54
20	225 Pyramidon	37,9° (± 0,6°)	37,5° (± 0,8°)		37,7° (± 0,6°)		36,6° (± 0,8°)		37,0° (± 1,0°)		35,5° (± 2,8°)	36,6° (± 0,7°)
20		38,5° (± 0,4°)	36,6° (± 0,7°)		36,0° (± 0,7°)		36,7° (± 0,8°)		36,0° (± 0,8°)		36,7° (± 0,5°)	36,7° (± 0,4°)
20	450 Pyramidon	37,9° (± 0,4°)	37,0° (± 0,6°)		36,5° (± 0,6°)		35,5° (± 1,4°)		37,8° (± 0,5°)		36,6° (± 0,4°)	
20		38,6° (± 0,6°)	35,0° (± 1,5°)		36,7° (± 0,7°)		36,7° (± 0,8°)		35,9° (± 0,5°)		36,7° (± 1,6°)	36,5° (± 1,3°)
20	7,5 Meg. +	37,1° (± 0,7°)	30,5° (± 2,6°)		33,2° (± 3,8°)		31,7° (± 7,0°)		31,4° (± 7,5°)			
20	450 Pyr.	37,9° (± 0,5°)	32,7° (± 2,9°)		34,2° (± 3,0°)		34,0° (± 5,8°)		33,9° (± 4,5°)		35,6° (± 4,4°)	35,1° (± 1,4°)
10	15 Meg. +	38,6° (± 0,3°)	29,0° (± 2,1°)		25,3° (± 4,7°)		22,0° (± 10,4°)					
10	225 Pyr.	38,9° (± 0,4°)	27,4° (± 0,9°)		27,2° (± 2,6°)		unter 22,0°					
10	15 Meg. +	36,8° (± 0,3°)	24,7° (± 2,5°)		25,3° (± 5,0°)							
10	450 Pyr.	39,0° (± 0,3°)	28,4° (± 1,1°)		29,6° (± 3,8°)		22,3° (± 0,4°)					

In den Spalten der Tabelle sind jeder Medikamentdosis 2 Temperaturwerte zugeordnet. Der obere Wert wurde bei gesunden Mäusen, der untere Wert bei infizierten Mäusen gewonnen. Weitere Erläuterungen im Text.

durch einen weiteren Versuch gesichert. 25 Mäuse wurden durch langdauernde Verabreichung soweit an Megaphen gewöhnt, daß nach 30 mg/kg Megaphen (pro die in 6 Einzeldosen) und bei Aufbewahrung bei 22—24° eine Temperatursenkung unterblieb. Der Anstieg der Trypanosomenzahlen bei diesen vorbehandelten Mäusen wird in Tab. 17 gezeigt. Zum Vergleich wird der Anstieg der Trypanosomenzahlen bei Mäusen aufgeführt, die ohne Vorbehandlung 30 mg Megaphen erhielten.

Tabelle 13. *Verstärkung der temperatursenkenden Wirkung von Megaphen durch Pyramidon.*

Anzahl der Versuchstiere	Arzneimittelbehandlung	Normaltemperatur	nach 1stündigem Aufenthalt bei 10°
60	unbehandelt	37,6° (± 0,9°)	37,5° (± 0,6°)
60	2,5 mg/kg Mega.	37,9° (± 0,8°)	34,3° (± 3,2°)
20	25 mg/kg Pyra.	37,5° (± 0,4°)	37,3° (± 0,5°)
20	50 mg/kg Pyra.	37,9° (± 1,3°)	36,4° (± 0,8°)
40	75 mg/kg Pyra.	37,3° (± 0,5°)	36,3° (± 1,0°)
20	2,5 mg/kg Mega. + 25 mg/kg Pyra.	37,8° (± 0,6°)	34,1° (± 3,6°)
20	2,5 mg/kg Mega. + 50 mg/kg Pyra.	38,0° (± 1,0°)	30,3° (± 3,0°)
20	2,5 mg/kg Mega. + 75 mg/kg Pyra.	37,2° (± 0,4°)	28,2° (± 1,5°)

Das Ergebnis des in Tab. 17 wiedergegebenen Versuchs beweist erneut, daß die Zunahme der Trypanosomenzahlen im Blut der Maus lediglich von der Körpertemperatur der Maus abhängig ist, während Megaphen keinen unmittelbaren Einfluß ausübt. Ein gleichsinniges Ergebnis wurde erhalten, als der bei nicht gewöhnten Mäusen durch 30 mg Megaphen zu erwartende Temperatursturz durch erhöhte Raumtemperatur verhütet wurde. Die Mäuse wurden im Thermostaten bei 35° verwahrt. Auch in diesem Fall kam es zu einem ungehemmten Anstieg der Trypanosomenzahlen.

Nach den unter 2a—2d vorgelegten Ergebnissen ist die unter A beschriebene Verlangsamung oder das völlige Ausbleiben der Trypanosomenvermehrung keine direkte, sondern lediglich eine indirekte Folge der Megaphenbehandlung. *Ein unmittelbarer Hemmungseffekt von Megaphen auf die Trypanosomenvermehrung ließ sich im geprüften Dosisbereich (7,5—120 mg/kg) nicht nachweisen.*

Die Überlebenszeit megaphenbehandelter Trypanosomenmäuse.

Die Überlebenszeit unbehandelter und bei Zimmertemperatur verwahrter Trypanosomenmäuse hängt ausschließlich vom Verlauf der Infektion ab. Sie sterben, wenn sie mit etwa 1000000 Tr. evansi infiziert

werden, am 2. oder 3. Tag nach der Übertragung (im Mittel nach $63^1/_3 \pm 6{,}8$ Std).

Megaphen, das nichtinfizierten Mäusen in höheren Dosen längere Zeit verabreicht wurde, hatte ebenfalls den Tod der Mäuse zur Folge. Die

Tabelle 14. *Verhalten der Trypanosomenzahlen bei der Senkung der Körpertemperatur durch unterschiedliche Megaphendosen (22—24° Raumtemperatur).*

Arzneimittel		1. Tag		2. Tag		3. Tag		4. Tag		5. Tag	
		nach der Infizierung und dem Beginn der Megaphenbehandlung									
		Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur
15 mg/kg Megaphen	a)	22000	36,4°	886000	36,9°	tot					
	b)	23000	36,9°	1098000	37,6°	tot					
	c)	19000	34,7°	782000	36,9°	tot					
	d)	16000	36,2°	674000	37,1°	tot					
	e)	5000	31,1°	160000	36,3°	tot					
30 mg/kg Megaphen	a)	7000	30,3°	26000	37,0°	1012000	35,6°	tot			
	b)	4000	30,4°	5000	20,8°	10000	21,1°	tot			
	c)	6000	32,7°	34000	35,6°	1184000	37,2°	tot			
	d)	1000	27,2°	7000	28,0°	5000	20,1°	5000	20,1°		
	e)	5000	28,1°	7000	21,5°	2000	20,4°	tot			
60 mg/kg Megaphen	a)	1000	23,3°	1000	21,8°	D.T.+	22,2°	tot			
	b)	D.T.+	25,8°	1000	21,8°	D.T.+	22,3°	1000	22,2°	tot	
	c)	1000	25,9°	1000	22,1°	1000	20,9°	1000	22,4°	tot	
	d)	D.T.+	24,8°	D.T.+	24,3°	2000	21,7°	1000	22,3°	1000	21,7°
	e)	4000	32,3°	48000	34,4°	1058000	36,7°	tot			
90 mg/kg Megaphen	a)	D.T.+	21,6°	1000	21,3°	D.T.+	22,6°	tot			
	b)	D.T.+	22,8°	D.T.+	22,0°	D.T.+	23,3°	D.T.+	24,4°		
	c)	D.T.+	22,5°	D.T.+	22,6°	1000	22,7°	tot			
	d)	1000	22,8°	D.T.+	22,6°	D.T.+	23,6°	tot			
	e)	D.T.+	21,5°	1000	22,1°	D.T.+	22,7°	tot			
120 mg/kg Megaphen	a)	D.T.+	22,7°	D.T.+	23,0°	D.T.+	22,4°	tot			
	b)	2000	23,1°	D.T.+	22,9°	1000	21,5°	tot			
	c)	D.T.+	23,1°	D.T.+	23,1°	tot					
	d)	D.T.+	23,2°	1000	22,6°	D.T.+	22,0°	tot			
	e)	D.T.+	22,4°	tot							

Arzneimittelbedingte Senkung auf etwa 30° und tiefere Temperaturen ist begleitet von niedrigen Trypanosomenzahlen oder ihrem stark verlangsamten Anstieg. Im Dosisbereich von 30 und 60 mg reagieren die einzelnen Tiere in sehr unterschiedlicher Weise auf die Megaphenbehandlung mit Senkung der Temperatur und der Trypanosomenzahlen. Zeichenerklärung s. Tab. 7.

Tiere waren unfähig zur Harn- und Kotausscheidung, es bildeten sich starke Ödeme aus, das Körpergewicht nahm in Abhängigkeit von der zugeführten Flüssigkeitsmenge bis zu mehreren Gramm zu. In der maximal dilatierten Blase fanden sich grüngefärbte Umwandlungsprodukte des Megaphens. Trotz weitgehender Immobilisierung zeigten der steilgestellte

Schwanz und langsame Krampfbewegungen eine zunehmende Vergiftung an. Schließlich starben die Tiere nach einem stundenlang anhaltenden Zustand minimalster Lebensäußerungen. Mäuse, die ausschließlich

Tabelle 15. *Verhalten der Trypanosomenzahlen bei der Senkung der Körpertemperatur durch unterschiedliche Megaphendosen (10° Raumtemperatur).*

Arzneimittel		1. Tag		2. Tag		3. Tag	
		Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur
7,5 mg/kg Megaphen	a)	7000	29,4°	169000	36,8°	tot	
	b)	10000	33,6°	606000	37,3°	tot	
	c)	24000	37,0°	694000	37,9°	tot	
	d)	20000	36,5°	832000	37,7°	tot	
	e)	21000	36,9°	784000	36,6°	tot	
15 mg/kg Megaphen	a)	D.T.+	21,6°	1000	22,3°	tot	
	b)	9000	35,1°	410000	36,8°	tot	
	c)	1000	20,2°	3000	25,1°	tot	
	d)	D.T.+	18,4°	D.T.+	24,9°	tot	
	e)	14000	37,1°	365000	35,4°	tot	

Die Versuchsanordnung entspricht mit Ausnahme der Raumtemperatur den unter Tab. 14 gemachten Angaben. Bei 10° Raumtemperatur kam es bereits nach 7,5 mg/kg Megaphen vereinzelt und vorübergehend, nach 15 mg/kg Megaphen bei der Mehrzahl der Tiere zum Temperaturabfall. Gleichzeitig wurden geringere Trypanosomenzahlen im Blut gefunden.

Tabelle 16. *Verhalten der Trypanosomenzahlen bei der Senkung der Körpertemperatur durch unterschiedliche Megaphen- und Pyramidondosen (10° Raumtemperatur).*

Arzneimittel		1. Tag		2. Tag		3. Tag	
		Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur
7,5 mg/kg Megaphen	a)	7000	29,4°	169000	36,8°	tot	
	b)	10000	33,6°	606000	37,3°	tot	
	c)	24000	37,0°	694000	37,9°	tot	
	d)	20000	36,5°	832000	37,7°	tot	
	e)	21000	36,9°	784000	36,6°	tot	
7,5 mg/kg Megaphen + 450 mg/kg Pyramidon	a)	1000	17,8°	tot			
	b)	2000	18,5°	tot			
	c)	48000	37,5°	960000	37,2°	tot	
	d)	12000	36,9°	458000	36,9°	tot	
	e)	3000	29,0°	tot			

Die Versuchsanordnung entspricht mit Ausnahme der Raumtemperatur den unter Tab. 14 gemachten Angaben. Gleichzeitige Gaben von Megaphen + Pyramidon hatten bei 3 der 5 Mäuse eine tiefe Temperatursenkung und niedrige Trypanosomenzahlen zur Folge.

Megaphen bekamen, hatten folgende Überlebenszeiten: Nach 30 mg/kg bei 22—24° starben 19 von 20 Mäusen zwischen dem 3. und 7. Tag; nach 60 mg/kg starben alle Tiere zwischen dem 2. und 5. Behandlungstag;

nach 90 mg/kg zwischen dem 4. und 6. Tag; nach 120 mg/kg zwischen dem 3. und 5. Tag. 10° Raumtemperatur hatte eine wesentliche Verkürzung dieser Überlebenszeiten zur Folge, die mit dem Absinken der Körpertemperatur unter 15° zusammenfiel.

Die Überlebenszeit von Versuchstieren, die sowohl infiziert als auch mit Megaphen behandelt wurden, war demnach abhängig:

Tabelle 17. *Körpertemperatur und Trypanosomenzahl bei Mäusen, die an Megaphen gewöhnt bzw. nicht gewöhnt waren (22—24° Raumtemperatur).*

Arzneimittel		1. Tag		2. Tag		3. Tag		4. Tag	
		Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur	Tryp.-Zahl	Temperatur
Gewöhnung	a)	20000	36,2°	664000	36,9°	tot			
30 mg/kg	b)	16000	36,0°	926000	37,2°	tot			
Megaphen	c)	15000	36,0°	668000	36,7°	tot			
	d)	11000	36,2°	1008000	36,8°	tot			
	e)	12000	36,6°	982000	36,9°	tot			
	a)	7000	30,3°	26000	37,0°	1012000	35,6°	tot	
30 mg/kg	b)	4000	30,4°	5000	20,8°	10000	21,1°	tot	
Megaphen	c)	6000	32,7°	34000	35,6°	1184000	37,2°	tot	
	d)	1000	27,2°	7000	28,0°	5000	20,1°	5000	21,2°
	e)	5000	28,1°	7000	21,5°	2000	20,4°	tot	

Versuchsanordnung: Das Ausbleiben einer wesentlichen Temperatursenkung nach 30 mg/kg Megaphen bei allen adaptierten Mäusen geht mit einem normalen Ansteigen der Trypanosomenzahlen einher. Bei einem Teil der nicht gewöhnten Mäuse kommt es zum Temperatursturz und gleichzeitig zu kleineren Trypanosomenzahlen.

1. vom Verlauf der Tr. evansi-Infektion;
2. von den vergiftenden Folgen der Megaphenbehandlung;
3. vom Grad der Auskühlung (in Abhängigkeit von der Raumtemperatur).

Zu 1. Im einzelnen geht aus der Tab. 8 hervor, daß die Trypanosomenvermehrung nach 30 mg/kg Megaphen pro die gehemmt war, daß nach 60 mg und noch höheren Megaphendosen nur noch bei einzelnen Tieren eine Trypanosomenvermehrung auftrat.

Zu 2. Bei der Behandlung von nichtinfizierten Mäusen mit täglichen hohen Megaphendosen (30—60—90—120 mg/kg) hatte sich gezeigt, daß alle Tiere (bis auf 1 von 80) am 7. Tag gestorben waren, wenn sie bei 22—24° verwahrt wurden.

Zu 3. Bei den bei 10° verwahrten unbehandelten Mäusen hatte sich gezeigt, daß eine tägliche Megaphenbehandlung mit z. B. 30 mg/kg (in 6 Einzeldosen) bei 11 von 20 Tieren einen plötzlichen Temperatursturz und den Tod der Tiere innerhalb von 24 Std zur Folge hatte.

Eine Verlängerung der Überlebenszeit infizierter Mäuse durch Megaphen war demnach nur bei Tieren zu erwarten, die einerseits relativ spät den vergiftenden Folgen der Megaphenbehandlung erlagen, die weiterhin vor einem zu starken Absinken der Körpertemperatur bewahrt

wurden (22—24° Raumtemperatur), die andererseits aber so stark ausgekühlt waren, daß ein Ansteigen der Trypanosomenzahlen unterblieb oder stark verzögert war. Diese Bedingungen waren in der bestmöglichen Weise erfüllt, wenn die mit 1000000 Tr. evansi infizierten Tiere 60 mg/kg Megaphen erhielten und in einem Raum von 22—24° verwahrt wurden. Unter diesen Umständen konnte eine eindeutige Verlängerung der Überlebenszeit erhalten werden. *Die megaphenbehandelten Tiere lebten länger als nicht megaphenbehandelte Tiere und starben nicht an der Trypanosomeninfektion* (Tab. 18).

Zu I. Versuche mit Tr. cruzi.

12—20 Tage lang verabreichte *kleine* Megaphendosen von 1—5 mg/kg pro Tag haben bei Tr. cruzi-infizierten Mäusen eine Verkürzung der Überlebenszeit zur Folge. Der Grund dafür muß noch im Experiment aufgeklärt werden. Man kann an eine Megaphenvergiftung der Maus oder an eine Hemmung der Infektabwehr denken. Eine Vergiftung ist in Anbetracht der kleinen Medikamentdosen wenig wahrscheinlich. Sollte eine Hemmung der Resistenz die Verkürzung der Überlebenszeit bedingen, so kann sie nicht auf einer cortisonähnlichen Wirkung beruhen, denn bei der Sektion der gestorbenen Tiere konnte eine Verkleinerung der Milz, wie sie nach Cortison in der Regel gefunden wird, nicht festgestellt werden. In quantitativer Hinsicht lassen sich mit Cortison erheblich stärkere Verkürzungen der normalen Überlebenszeit erzielen als mit Megaphen.

Zu II. Versuche mit Tr. evansi.

Kräftige Megaphendosen können die Überlebenszeit von Mäusen, die mit Tr. evansi infiziert wurden, verlängern. Nach 2—6 Tagen mit 30—120 mg/kg/die stiegen zugleich die Trypanosomenzahlen im Blut langsamer an. Diese Befunde können nicht auf ein direktes Einwirken des Megaphens auf die Trypanosomen zurückgeführt werden, sie sind vielmehr von der Aufhebung der Homoiothermie und dem Absinken der Körpertemperatur um etwa 10—20° abhängig.

Diese an zwei verschiedenen Trypanosomeninfektionen erarbeiteten Ergebnisse können nicht ohne weiteres den Erfahrungen im Bereich der Humantherapie zur Seite gestellt werden.

Wenn wir im folgenden dennoch den Versuch machen, unsere Ergebnisse als Leitfaden zu verwenden, um Beiträge, die von anderer Seite und mit Hilfe andersartiger Studienobjekte zu diesem Problem gebracht wurden, zu ordnen, dann ausschließlich mit der Absicht, auf die Lücken unseres Wissens in dieser praktisch wichtigen Frage hinzuweisen. Die experimentelle Bearbeitung ist um so notwendiger, als die hier besprochenen Probleme im deutschen klinischen Schrifttum ohne ausreichende Unterlagen diskutiert (Höring) bzw. in verallgemeinernder Darstellung zum Teil als gelöst hingestellt werden (Decourt).

Die ersten tierexperimentellen Arbeiten zum Einfluß von Phenothiazinderivaten auf den Verlauf von Infektionskrankheiten stammen von HALPERN und seinem Mitarbeiterkreis. Sie untersuchten das dem Megaphen chemisch und pharmakologisch nahestehende N-(1-Diäthylamino-propyl)-2-phenothiazin = „Phenergan" (bzw. „Atosil"). Ihre Versuche führten zu dem Ergebnis, daß eine kurz dauernde, hoch dosierte Behandlung mit diesem Medikament sowohl die Generalisation experimentell erzeugter örtlicher Infektionen fördert als auch spontan septische Erkrankungen durch banale Erreger aufkommen läßt. Als Ursache für die Infektausbreitung vermuteten sie die Hemmung lokal umschriebener Abwehrvorgänge bzw. die Hemmung der Phagocytoseaktivität reticulo-endothelialer Zellen. Weiterhin erkannte HALPERN, daß diese Wirkung des Atosils auf den Infektionsverlauf mit der Antihistaminwirkung der Substanz nichts zu tun hat. Aus in vitro-Versuchen, die COURMONT u. DERIES, POLEMANN, STÜTTGEN u. a. mit Atosil durchgeführt haben, ist andererseits bekannt, daß sowohl Atosil als auch andere Phenothiazinderivate tuberculo-, bakterio- und fungostatische Wirkungen haben. Atosil kann demnach sowohl die Infektabwehr als auch die Infektionserreger schädigen. Die infektionsfördernde sowie die chemotherapeutische Wirkung des Atosils

Tabelle 18. *Überlebenszeit megaphenbehandelter Trypanosomenmäuse.*

Überlebenszeit nach Behandlungsbeginn in Stunden	Kontrollen 33 Tiere		15 mg/kg Megaphen 20 Tiere		30 mg/kg Megaphen 27 an Meg. gewöhnte Tiere		30 mg/kg Megaphen 30 Tiere		60 mg/kg Megaphen 30 Tiere		90 mg/kg Megaphen 30 Tiere		120 mg/kg Megaphen 30 Tiere		Kontrollen 80 Tiere		30—120 mg/kg Megaphen 120 Tiere	
24	33	100%	20	100%	27	100%	30	100%	30	100%	29	96,7%	29	96,7%	80	100%	188	98,3%
48	33	100%	19	95%	27	100%	30	100%	30	100%	29	96,7%	28	93,3%	79	98,7%	117	97,5%
72		∅		∅		∅	26	86,7%	29	96,7%	25	83,3%	24	80%		∅	104	86,7%
96							10	33,3%	21	70%	4	13,3%	4	13,3%			39	32,5%
120							2	6,7%	5	16,7%	1	3,3%		∅			8	6,7%
144								∅	1	3,3%		∅					1	0,8%
168										∅								∅

In den Spalten 1—3 sind die Anzahl und der Prozentsatz überlebender Mäuse angegeben, die entweder kein Megaphen erhielten oder bei denen es nach der Megaphengabe nicht zu einem wesentlichen Temperaturabfall kam. Keins dieser 80 Tiere lebte 72 Std nach der Übertragung von 1000000 Trypanosomen.

In den Spalten 4—7 sind die Anzahl und der Prozentsatz überlebender Mäuse angegeben, bei denen mit Megaphen Temperatursenkungen hervorgerufen wurden (Raumtemperatur 22—24°). Die günstigsten Überlebenschancen hatten die Tiere der Spalte 5. In den Spalten 8 und 9 sind die Ergebnisse der 1.—3. und 4.–7. Spalte summiert und gegenübergestellt.

Tabelle 19. *Zur Prüfung der*

Raumtemperatur	Normal-temperatur	Stunden nach Messung		
		1	2	2,5
10°	37,6° (± 0,4°)	37,4° (± 0,5°)	37,3° (± 0,6°)	37,3° (± 0,4°)
	37,6° (± 0,6°)	37,4° (± 0,9°)	37,4° (± 0,9°)	28,8° (± 2,0°)
22—24°	37,9° (± 0,5°)			37,3° (± 0,4°)
	38,1° (± 0,6°)			31,1° (± 1,0°)
39°	38,2° (± 0,5°)	40,5° (± 0,7°)	39,4° (± 0,3°)	38,0° (± 0,4°)
	37,8° (± 0,4°)	40,9° (± 0,5°)	39,5° (± 0,4°)	39,2° (± 1,1°)

In der oberen Reihe jeder waagerechten Spalte sind die Mittelwerte der Temperaturen von 20 Kontrolltieren (0,5 cm³ NaCl-Lösung), in der unteren Reihe die Mittelwerte der Temperaturen von 20 mit 20 mg/kg Megaphen behandelten Mäusen angegeben. Bei Raumtemperatur von 39° besteht lediglich zwischen den Mittelwerten der Temperaturen der 5. und 6. Std nach Beginn der Behandlung eine statistisch gesicherte Differenz.

scheint aber schwach zu sein und für die therapeutische Anwendung dieses Antihistaminkörpers keine praktische Bedeutung zu besitzen.

Auf Grund dieser Arbeiten wurde die Frage nach dem Einfluß der Arzneibehandlung auf den Verlauf von Infektionskrankheiten auch im Zusammenhang mit der Megaphentherapie gestellt. Eine Herabsetzung der Infektionsabwehr nach langdauernd verabreichtem Megaphen wird besonders in den Kreisen der Psychiater befürchtet (Brehmer u. Ruckdeschel, Nayrac u. Mitarb., Delay u. Deniker). Kucher u. Steinbereithner glauben, daß Megaphen Entzündungsvorgänge unterdrücke und daß dadurch der Infektionsausbreitung Vorschub geleistet werde. Ihre Angaben werden durch die experimentellen Befunde von Ducommun, der bei Megaphen eine hervorragende entzündungshemmende Wirkung nachweisen konnte, gestützt. Andererseits betont Laborit, daß der unter Mitwirkung von Megaphen erzeugte künstliche Winterschlaf bei akuten infektiösen Prozessen im Abdomen oder Thorax lebensbedrohende Phasen überwinden hilft. Er glaubt, daß die Latenzzeit von Infektionen verlängert wird, wenn sofort die lytische Mischung verabreicht wird. Chronisch verlaufende Infektionen allerdings schließt auch er von der Megaphenbehandlung aus, weil er eine Störung der hier so wichtigen Immunitätsverhältnisse für denkbar hält. Foudroyant verlaufende Infektionen sind mehrfach auch von anderer Seite mit gelenkter Hypothermie erfolgreich behandelt worden (z. B. Martin, Jentzer u. Mitarb., Rives u. Menanger, de Lavergne u. Schmitt). Die günstige Wirkung der gelenkten Hypothermie wird dem Megaphen bzw. dem lytischen Arzneimittelgemisch zugeschrieben. Folgende Ursachen werden diskutiert:

1. Hemmung der Toxinwirkungen. Reilly u. Tournier sowie Maral konnten sie an Mäusen, die mit Coli- oder Typhus-Endotoxin nachhaltig behandelt wurden, nachweisen.

2. Hemmung des Keimwachstums und der Toxinbildung durch Unterkühlung.

3. Hemmung des Keimwachstums durch unmittelbare Megapheneinwirkung auf die Infektionserreger. Decourt hat diese von ihm „narkobiotisch" genannte Wirkung in vitro nachgewiesen. Er glaubt, daß sie der Hemmung durch Kälte nahekommt. Weiterhin decken sich nach Ansicht von Decourt, M. Brunaud u. S. Brunaud die wirksamen „narkobiotischen" Megaphenkonzentrationen mit den therapeutischen Megaphenkonzentrationen im Versuchstier bzw. Patienten.

hypothermischen Wirkung von Megaphen.

der Normaltemperatur

3	3,5	4	5	6
37,4° (± 0,3°)	37,1° (± 0,4°)	37,2° (± 0,3°)	36,6° (± 0,5°)	36,9° (± 0,6°)
25,1° (± 1,7°)	22,6° (± 1,5°)	22,1° (± 1,5°)	[19,8° (± 1,9°)[1]	17,6° (± 1,6°)[2]]
37,3° (± 0,5°)	37,3° (± 0,6°)	37,0° (± 0,5°)	37,0° (± 0,5°)	37,0° (± 0,4°)
29,8° (± 1,4°)	29,4° (± 1,8°)	29,1° (± 2,1°)	29,2° (± 2,4°)	28,3° (± 2,5°)
39,2° (± 0,8°)	39,7° (± 0,9°)	40,1° (± 0,7°)	42,7° (± 1,0°)	43,4° (± 2,2°)
40,4° (± 0,9°)	40,3° (± 1,3°)	40,5° (± 1,2°)	41,2° (± 1,1°)	41,3° (± 0,8°)

[1] Mittelwert von 19 der 20 Mäuse, 1 Maus unter 15,5° konnte nicht berücksichtigt werden.

[2] Mittelwert von 14 der 20 Mäuse, 6 Mäuse unter 15,5° konnten nicht berücksichtigt werden.

Besprechung im Text.

Dem Megaphen wird demnach — wie schon dem Atosil — sowohl eine hemmende Wirkung auf die Infektabwehr als auch auf die Infektionserreger zugeschrieben.

Nach den eigenen Ergebnissen wird einerseits die Überlebenszeit mit Tr. cruzi infizierter Mäuse verkürzt. Eine Hemmung der Infektabwehr konnte aber nicht schlüssig bewiesen werden. Die Richtigkeit der Hypothese von einer megaphenbedingten Resistenzschwächung kann daher noch nicht bestätigt werden.

Andererseits wurde eine hemmende Wirkung auf das Ansteigen der Trypanosomenzahlen im Blut gefunden. Diese Wirkung großer Megaphengaben auf die foudroyant verlaufende Tr. evansi-Infektion kommt aber eindeutig auf dem Umweg über die Unterkühlung der Maus zustande. Sie setzt eine ausreichende Temperaturempfindlichkeit der Infektionserreger im biologischen Milieu voraus, die zwar für Tr. evansi, nicht aber für Infektionserreger im allgemeinen bewiesen ist. Auch hier müssen weitere Erfahrungen gesammelt werden, ehe die praktische Bedeutung des von uns nachgewiesenen Wirkungsmechanismus für lebensbedrohende Infektionen beim Menschen abgeschätzt werden kann. In welchem Ausmaß eine Hemmung der Toxinbildung und der Toxinwirkung von Fall zu Fall eintritt, muß ebenfalls noch ausgiebiger studiert werden.

Wenig Wahrscheinlichkeit hat nach unseren Ergebnissen Decourts Ansicht von einem unmittelbaren „narkobiotischen" Effekt des Megaphens auf Infektionserreger für sich.

Die Versuche von Decourt wurden am Seeigelei, an Infusorien, Bakterien und Pilzen, d. h. in vitro, angestellt, wobei Megaphen der Kulturflüssigkeit zugesetzt wurde. Die hierbei bestehende Medikamentverteilung und -konzentration läßt sich nicht ohne weiteres auf infizierte Menschen oder Versuchstiere übertragen. Aus den Versuchen von Dubost an Hunden und Kaninchen und eigenen orientierenden Versuchen an Mäusen geht hervor, daß die Megaphenkonzentration im Blut der Tiere

durchschnittlich nicht höher als auf 4—6 mg/l ansteigt, selbst wenn einmalig 500 mg/kg — eine tödliche Dosis — verabreicht werden. Eine Megaphenkonzentration, die nach Decourts Angaben in vitro auf Infusorien eine beginnende Hemmwirkung ausübt, wird man im Blut infizierter Tiere oder in der Humantherapie nicht erreichen bzw. nicht längere Zeit aufrechterhalten können. Insofern können wir uns seiner Ansicht, daß „narkobiotisch" wirksame Megaphenkonzentrationen im Versuchstier und Patienten übereinstimmen, nicht anschließen.

Weiterhin können wir der Ansicht von Decourt, M. und S. Brunaud, nach der die hypothermische Wirkung des Megaphens immer annähernd die gleiche sei, unabhängig davon, ob die Außentemperatur höher, gleich oder tiefer ist als die Körpertemperatur des Homoiothermen unter normalen Umständen — denn die Temperatursenkung sei in allen 3 Fällen die gleiche — nicht zustimmen. Aus der Tab. 19 geht hervor, daß die Körpertemperatur von Mäusen, die einmalig 20 mg/kg Megaphen erhalten haben, weitgehend von der Außentemperatur abhängt. Bei einer Außentemperatur von 39° hat Megaphen überhaupt keine hypothermische Wirkung.

Weitere Einzelergebnisse, die im Verlauf unserer Untersuchungen erhalten wurden, decken sich mit vergleichbaren Beobachtungen, die von anderer Seite veröffentlicht wurden:

Lutz berichtet, daß bei Meerschweinchen die kritische Temperatur für die Reizbildung im Herzen bei 16° liegt, für die Erregungsausbreitung bei 13°; Troedsson fand, daß für Kaninchen die letale Temperatur bei 16° liegt; Bigelow u. Mitarb. sahen bei der ausschließlichen Anwendung von Kälte beim Hund Herzflimmern, wenn die Tiere auf 16—22° abgekühlt wurden; Kramer u. Reichel berichteten, daß die Kammerautomatie der Hunde bei 15° versagt. Wir fanden, daß Mäuse, deren Temperatur unter 15,5° absinkt, sterben. Man kann vermuten, daß auch bei Mäusen die Herztätigkeit und der Kreislauf infolge der weitgehenden Unterkühlung sistieren.

Filk u. Mitarb. beobachteten bei Ratten, daß nach wiederholter Verabfolgung der gleichen Megaphendosis der Abfall der Körpertemperatur immer unerheblicher wurde und schließlich ganz ausblieb. Ihre Angaben stimmen mit dem Ergebnis unserer Gewöhnungsversuche vollkommen überein.

Unsere Ergebnisse über die erhebliche Verstärkung des temperatursenkenden Effektes von Megaphen durch Pyramidon bestätigen frühere Befunde von Friebel, Flick u. Reichle.

Zusammenfassung.

Die Überlebenszeit von Laboratoriumsmäusen, die mit Trypanosoma *cruzi* infiziert worden waren, wurde durch tägliche subcutane Gaben von 1, 2, 3 oder 4 mg/kg Megaphen verkürzt. Die Verkürzung der Überlebenszeit liegt außerhalb des Zufallsbereiches ($\varepsilon = 0{,}27\%$).

Die Überlebenszeit von Laboratoriumsmäusen, die mit Trypanosoma *evansi* infiziert worden waren, wurde durch tägliche Gaben von 30 bis 120 mg/kg Megaphen, am stärksten nach 60 mg/kg Megaphen, verlängert. Die megaphenbehandelten Tiere lebten zum Teil mehr als doppelt

so lange wie unbehandelte Kontrollen und starben *nicht* an der Trypanosomeninfektion, sondern an den Folgen der Arzneimittelbehandlung.

Bei den mit hohen Megaphendosen behandelten Mäusen verlief das Ansteigen der Trypanosomenzahlen im Blut erheblich verlangsamt oder blieb ganz aus. Dieser Effekt wird durch das Absinken der Körpertemperatur der Mäuse hervorgerufen, wobei es gleichgültig ist, ob das Auskühlen der Mäuse durch Megaphen, eine Mischung von Megaphen und Pyramidon oder durch Arzneimittelwirkung und zusätzliche Herabsetzung der Raumtemperatur ermöglicht wird. Die verbesserte Überlebenschance megaphenbehandelter Trypanosomenmäuse ist demnach keine direkte, sondern eine indirekte Folge der Megaphenbehandlung, denn Megaphen hat im geprüften Dosisbereich von 7,5—120 mg/kg/Tag keine nachweisbare unmittelbare Hemmungswirkung auf die Trypanosomen.

Bei gesunden sowie mit Trypanosomen infizierten Mäusen hat Megaphen dieselbe Wirkung auf das Verhalten der Körpertemperatur; sie sinkt in Abhängigkeit von der Dosis, der Dauer der Behandlung und der Raumtemperatur. Für eine völlige Abhängigkeit der Körpertemperatur von der Umgebungstemperatur sind tägliche Gaben von 30 mg/kg subcutan erforderlich. Nach wiederholten Megaphengaben tritt die anfängliche Temperatursenkung immer schwächer auf und bleibt schließlich ganz aus.

Der temperatursenkende Effekt von Megaphen wird durch gleichzeitige Gaben von Pyramidon in Dosen, die für sich allein keine Temperatursenkung bewirken, bedeutend verstärkt.

Die Unterkühlung der Maus hat den Kältetod zur Folge, wenn die Körpertemperatur auf 15,5° abgesunken ist.

Fräulein Marianne Kritzler-Kosch und Fräulein Christel Doll danken wir für ihre wertvolle Mitarbeit. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglichte die Durchführung der Untersuchungen.

Literatur.

Barski, G.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **143**, 1568 (1949). — Bigelow, W. G., W. K. Lindsay and W. F. Greenwood: Ann. Surg. **132**, 849 (1950). — Brehmer u. Ruckdeschel: Kongr. Ges. dtsch. Neurol. u. Psychiat. München, 26.—29. 8. 1953. — Courmont, P., and G. Deries: Soc. de Biol. **114**, 335 (1951). — Decourt, P.: Ärztl. Praxis **6**, Nr. 17 (1954). — C. r. Acad. Sci. (Paris) **236**, 1195 (1953). — Thérapie **8**, 846 (1953). — Decourt, P., M. Brunaud et S. Brunaud: C. r. Soc. Biol. (Paris) **147**, 1605 (1953); **147**, 1607 (1953). — Delay, J., et P. Deniker: Congr. Psychiatr. Langue Franç. Luxembourg, 22.—26. 7. 1952. — Dubost, P., et S. Pascal: Ann. pharmac. franç. **11**, 615 (1953). — Ducommun, P.: Praxis (Bern) **1952**, Nr. 30. — Ducrot, R.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **143**, 1577 (1949). — Egger, R.: Therap. Umschau **9**, 63 (1952). — Filk, H., K. Ritter, E. Stürmer u. A. Loeser: Klin. Wschr. **1954**, 265. — Friebel, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 501 (1952); **216**, 515 (1952). — Friebel, H., H. Flick u. C. Reichle: Arzneimittel-Forsch. **4**, 171 (1954). — Halpern, B. N., B. Benacerraf, V. Péan u. A. Salva: C. r. Soc. Biol. (Paris) **144**, 667 (1950). — Halpern, J. B. N., Dumas

u. H. Reber: C. r. Soc. Biol. (Paris) **143**, 1563 (1949). — Höring, F. O.: Dtsch. med. Wschr. **1954**, 987. — Jentzer, A., Corboud u. A. Müller: II. Kongr. Österr. Ges. Anaesth. Velden, 17.—19. 5. 1953. — Kästner, H.: Dissertation Bonn (1953). — Kramer, K., u. H. Reichel: Klin. Wschr. **1944**, 192. — Kucher, R., u. Steinbereithner: Wiss. Sitzg. Österr. Ges. Anaesth. Wien, 29. 1. 1953. — Laborit, H.: Dtsch. med. J. **1953**, 381. — De Lavergne et Schmitt: Press. méd. **1953**, 1610. — Lutz, W.: Anaesthesist **2**, 161 (1953). — Maral, R.: VII. Congr. Internat. Microbiologica 1953. — Martin, C.: Press. méd. **1953**, 84. — Nayrac, P., P. Graux, J. Caron u. G. Lescut: Press. méd. **1953**, 1262. — Polemann, G.: Arzneimittel-Forsch. **1**, 211 (1951). — Reilly, J., et P. Tournier: Press. méd. **1953**, 1031. — Rives et Menanger: Anesth. et Analg. **10**, 450 (1953). — Stüttgen, G.: Münch. med. Wschr. **1950**; 19/20, S. 92. — Troedsson, B. S.: Arch. physik. Ther. **20**, 501 (1939).

Dozent Dr. H. Friebel u. Dr. H. Kästner, Bonn, Reuterstr. 2b.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 237—250 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. Brücke).

Über die Wechselwirkungen von d-Tubocurarin, Eserin und depolarisierenden Substanzen am isolierten Rattenzwerchfell, untersucht am Beispiel des Octamethylen-Biscarbaminoylcholins.

Von
W. Kobinger und O. Kraupp.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. November 1954.)

In der kürzlich an unserem Institut durchuntersuchten Substanzklasse der Polymethylen-Dicarbaminsäure-Bischolinester zeichnete sich die Verbindung Octamethylen-Biscarbaminoylcholin (BC 9) neben einer starken neuromuskulär lähmenden Wirkung auch durch eine beträchtliche Hemmung beider Cholinesterasetypen in vitro aus[9]. Obwohl die Hemmwirkung auf die Cholinesterase (ChE) des Nucleus caudatus von gleicher Größenordnung wie die des Eserins war, konnten wir am Ganztier keinerlei muscarinartige Wirkungen beobachten. Neuere Untersuchungen von E. Herzfeld u. Ch. Stumpf[5] ergaben ferner, daß an Hunden selbst bei 100%iger Lähmung der echten ChE (der Erythrocyten) in vivo weder die Blutdruckwirkung von Acetylcholin (ACh) noch die anderer Cholinester verstärkt wurde.

Unsere neuen Untersuchungen befaßten sich nun mit der Frage, ob Octamethylen-Biscarbaminoylcholin (BC 9) ähnlich wie bei den muscarinartigen auch keinerlei Potenzierung der nicotinartigen Wirkungen des ACh an der durch d-Tubocurarin (d-TC) gelähmten Muskelendplatte (Anticurarewirkung) zeigt. Einer genaueren Untersuchung dieser Verhältnisse am Ganztier standen insofern Schwierigkeiten im Wege, als in analoger Weise wie bei der Wechselwirkung zwischen d-TC und Dekamethonium[10, 7, 3] durch die stark depolarisierende Eigenwirkung des BC 9[9, 8] ein zusätzlicher Antagonismus gegenüber der d-TC-Lähmung zu erwarten war. Für einen Nachweis einer durch ChE-Hemmwirkung bedingten Anticurarewirkung des BC 9 schien uns daher das isolierte Phrenicus Zwerchfellpräparat der Ratte besser geeignet, da hier der Antagonismus rein depolarisierender Substanzen gegenüber d-TC schwach oder gar nicht in Erscheinung tritt[6], während die Wechselwirkung zwischen d-TC- und ChE-Hemmkörpern deutlich nachgewiesen werden kann[1].

Die Präparation des Rattenzwerchfelles wurde nach der Methode von E. Bülbring[1] durchgeführt. Die Reizung des Nervus phrenicus erfolgte unipolar durch supramaximale Gleichstromstöße mit einer Reizfrequenz von 6/min. Die Ringer-Lösung wurde nach den Angaben von Taugner u. Fleckenstein[12] zubereitet. Das Volumen der Badeflüssigkeit betrug 50 cm³. Für die nachstehenden Untersuchungen wurde d-TC als Chlorid der Firma Heilmittelwerke Wien, BC 9 als Jodid der Österreichischen Stickstoffwerke AG und Eserin als Salicylat verwendet.

I. Anticurarewirkung von Eserin.

Zunächst suchten wir nach einer geeigneten Versuchsanordnung, um einen Antagonismus zwischen d-TC-und ChE-Hemmkörpern möglichst optimal und bei Wiederholung reproduzierbar darzustellen. In einer Reihe von Vorversuchen mit d-TC und Eserin konnte dies am besten dann erreicht werden, wenn der Zwerchfellmuskel zuerst mit d-TC vollständig gelähmt und hernach mit Eserin versetzt wurde. Hierbei kam es 30 bis 60 sec später zum Wiederauftreten von Kontraktionen, die 4—5 min steil anstiegen und dann eine konstante Höhe beibehielten, die etwa 40—50% der Ausgangskontraktionshöhe betrug und während einer Beobachtungs-

Tabelle 1.

Nr.	d-TC-Dosis die benötigt wurde um gerade 100%ig zu lähmen µg	Kontraktionshöhe des Muskels vor d-TC-Zusatz mm	Kontraktionshöhe des Muskels nach eingetretener Eserinerholung mm	Eserinerholung in Prozent der Ausgangshöhe %
1	80	69	34	49
2	60	67	15,5	23
3	60	61	12,5	20,5
4	60	68	14,5	21,5
5	60	66	19	28,8

zeit von weiteren 20—30 min keine Veränderungen zeigte (Abb. 2). Dieser Erholungseffekt war bereits bei Eserindosen von 2—3 µg/50 cm³ voll ausgeprägt und konnte durch 10fache Steigerung der Eserindosis nicht weiter verstärkt oder abgeschwächt werden. In allen folgenden Versuchen wurde stets einheitlich eine Dosis von 5 µg/50 cm³ Eserin (berechnet als Base) verwendet. Wir konnten nun feststellen, daß bei mehrfacher Wiederholung des eben beschriebenen Versuches an ein und demselben Präparat die Curareempfindlichkeit vom ersten auf den zweiten Versuch zunahm, dann aber weitgehend konstant blieb, wobei zwischen den einzelnen Versuchen eine Erholungspause von 1½ Std unter mehrmaligem Auswechseln des Ringer-Bades lag. Da bei einer Reihe unserer Versuche eine weitgehende Konstanz der Curareempfindlichkeit des Präparates bei aufeinanderfolgenden Versuchen notwendig war, wurde in einem solchen erst bei der zweiten d-TC Einwirkung mit der eigentlichen Versuchsreihe begonnen (Abb. 2). Aus Tab. 1 kann entnommen werden, wie bei einer solchen Versuchsreihe d-TC Wirkung und Eserinantagonismus nach dem zweiten Versuch weitgehend konstant bleiben.

II. Anticurarewirkung von BC 9.

Die Untersuchungen wurden in genau derselben Weise wie zur Darstellung des Eserinantagonismus bei d-TC-Lähmung durchgeführt. Es zeigte sich, daß BC 9 im selben molaren Dosenbereich wie Eserin (5 bis 60 μg BC 9/50 cm^3) keine Wirkung auf den durch d-TC vollständig gelähmten Muskel ausübte. Desgleichen zeigten Dosen von 60—200 μg BC 9/50 cm^3, die an unbehandelten Zwerchfellen eine 50—100%ige Lähmung hervorrufen würden, keinerlei Anticurarewirkung. Bei Anwendung hoher Dosen BC 9 (300—600 μg/50 cm^3) konnten wir in einigen Fällen ein Wiederauftreten von Kontraktionen des völlig gelähmten Muskels beobachten, die innerhalb 30 bis 40 sec ein Maximum (mit etwa 5% der Ausgangshöhe der Kontraktionen) erreichten, dann aber wieder an Höhe abnahmen und 2—3 min nach dem BC 9-Zusatz völlig verschwanden (Abb. 1). Diese erst bei sehr hohen Dosen von BC 9 auftretende Erscheinung hat in ihrem Verlauf keinerlei Ähnlichkeit mit der Anticurarewirkung des Eserins und dürfte der depolarisierenden Eigenwirkung des BC 9 zuzuschreiben sein. (Vergleich der Abb. 1 u. 2.)

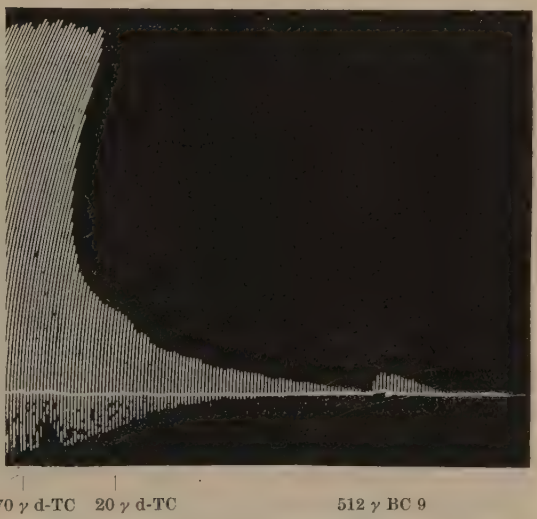


Abb. 1. Isoliertes Zwerchfellphrenicuspräparat der Ratte, Reizfrequenz 6/min, Volumen der Badeflüssigkeit: 50 cm^3. Einwirkung einer hohen BC 9-Dosis auf den durch d-TC gelähmten Zwerchfellmuskel.

Wir konnten also bei Octamethylen-Biscarbaminoylcholin (BC 9), trotz seiner starken ChE Hemmwirkung in vitro, am vollständig durch d-TC gelähmten Rattenzwerchfell keine Anticurarewirkung beobachten, wie sie in der gleichen Versuchsanordnung für Eserin leicht nachzuweisen war.

Diese Diskrepanz kann auf zweierlei Weise erklärt werden. 1. BC 9 übt auf die Gewebsesterase des Rattenzwerchfelles keine Hemmwirkung aus und 2. BC 9 hemmt zwar die Gewebsesterase des Rattenzwerchfells, die dadurch zu erwartende Anticurarewirkung wird jedoch durch die stark depolarisierende Eigenwirkung des BC 9 verhindert. Die zweite Möglichkeit setzt die Annahme eines doppelten Wirkungsmechanismus

von BC 9 gegenüber der neuromuskulären Erregungsüberleitung voraus. Eine Entscheidung zwischen beiden Erklärungsmöglichkeiten schien uns unter Zugrundelegung der kompetitiven Verdrängungstheorie der Wechselwirkung biologisch aktiver Substanzen möglich.

Die Annahme von Verdrängungsgleichgewichten zwischen d-TC und ACh bzw. anderen quartären Ammoniumverbindungen wurde vor allem von Clark[2] und in neuester Zeit von Riker[11] vertreten. Nach den Vorstellungen der kompetitiven Verdrängungstheorie bedeutet die Annahme eines doppelten Wirkungsmechanismus von BC 9, daß sich bei Durchführung des d-TC—BC 9-Versuches ein Dreistoffgleichgewicht (d-TC, BC 9 und ACh) an der Endplattenoberfläche des Zwerchfellmuskels einstellen müßte, wie es z. B. Bovet[4] für das System ACh, d-TC und Flaxedil am Froschrectus zeigen konnte. Bei Anwendung dieser Überlegungen auf das Ergebnis des eben mitgeteilten d-TC—BC 9-Versuches ergibt sich nun folgendes: Zunächst müßte bei vollständiger Lähmung des Zwerchfellmuskels offenbar eine komplette Absättigung der Endplattenoberfläche mit d-TC eintreten. Je nach der verwendeten BC 9-Dosis sollte nun neben der durch ChE-Hemmung bedingten Freisetzung von ACh eine mit steigender BC 9-Konzentration zunehmende Verdrängung von d-TC durch BC 9 an der Endplattenoberfläche stattfinden. Bei der Anwendung geringer BC 9-Mengen (5—60 μg/50 cm^3 BC 9), die in Analogie zum in vitro gleich wirksamen Eserin bereits eine komplette ChE-Hemmung verursachen müßten, selbst aber noch zu keiner oder nur zu teilweiser Lähmung des Muskels führen, kann dann offenbar nur ein Teil des an der Endplatte befindlichen d-TC verdrängt werden. Im restlichen mit d-TC besetzten Teil der Endplattenoberfläche müßte durch das gleichzeitig durch ChE Hemmung angereicherte ACh die Erregbarkeit in ähnlichem Ausmaß wie im d-TC-Eserinversuch wieder hergestellt werden. Bei höheren bereits allein zu vollständiger Muskellähmung führenden BC 9-Dosen könnte es dagegen möglich sein, daß ein Großteil oder sogar alles d-TC von der Endplatte verdrängt wird und dadurch eine Wiederherstellung der Erregbarkeit durch Verdrängung von d-TC durch ACh unmöglich wird, allerdings unter der Voraussetzung, daß eine BC 9-Lähmung durch ACh nicht oder nur in geringem Ausmaße antagonisiert werden kann.

Die Tatsache, daß wir in unseren oben beschriebenen Versuchen bei Anwendung kleiner und mittlerer Dosen von BC 9 nie das Auftreten eines Curareantagonismus beobachten konnten, spricht nun gegen die Richtigkeit der auf einen dualen Wirkungsmechanismus des BC 9 aufgebauten theoretischen Annahmen. Vielmehr muß auf Grund dieser Überlegungen ein Wirkungsmechanismus des BC 9, der auf ChE-Hemmwirkung beruht, ausgeschlossen werden. Hingegen liegt eine direkte Endplattenwirkung des BC 9 bei Gegenwart von d-TC durchaus im Bereich der Möglichkeit, da nicht ausgeschlossen werden kann, daß die ursprünglich in unseren Versuchen vorhandene d-TC Lähmung durch den BC 9-Zusatz teilweise in eine durch BC 9-Wirkung bedingte Lähmung übergangen ist.

Eine Aufklärung dieser Fragestellung versuchten wir durch Untersuchung des oben in unseren theoretischen Ausführungen geforderten *Dreistoffgleichgewichtes* (d-TC, BC 9, ACh) zu finden, wobei wir die hierzu notwendige ChE-Hemmwirkung, die dem BC 9 am isol. Rattenzwerchfell offenkundig fehlt, durch Eserinzusatz ergänzten. Bei Vorliegen eines solchen Gleichgewichtes an der Endplatte müßte es möglich sein, durch Eserinzusatz zu einem mit d-TC *und* BC 9 gelähmten Muskel, wenigstens im d-TC-gelähmten Muskelanteil die Erregung wieder herzustellen. In

diesem Falle wäre auch zu erwarten, daß der Grad der durch Eserin bewirkten Erholung der Muskelkontraktionen von dem Verhältnis der angewendeten BC 9-und d-TC-Konzentration abhängt, da hierdurch der prozentuelle Anteil des d-TC an der Gesamtendplattenkonzentration bestimmt wird. Darüber hinaus bestünde allerdings auch die Möglichkeit, daß ACh neben d-TC auch noch einen Teil des BC 9 von der Endplatte zu verdrängen imstande wäre. Zur Abklärung dieser letzteren Möglichkeit wurde zunächst der Einfluß von Eserin auf durch BC 9 vollständig gelähmte Rattenzwerchfellpräparate untersucht.

III. Wechselwirkung zwischen BC 9 und Eserin.

Die einzelnen Versuche wurden in der prinzipiell gleichen Versuchsanordnung wie unter I. durchgeführt, nur daß das Zwerchfell zunächst anstatt mit d-TC mit BC 9 vollkommen gelähmt wurde. Die hierzu notwendigen BC 9-Dosen lagen zwischen 150 und 250 μg. Der Eserinzusatz erfolgte in gleicher Höhe wie in der ersten Versuchsserie (5 μg/50 cm^3). Von den insgesamt 8 durchgeführten Versuchen konnte in zwei Versuchen keine Beeinflussung der BC 9-Lähmung durch nachfolgende Eserinverabreichung beobachtet werden. Bei den restlichen 6 Versuchen kam es nach Zusatz von Eserin zu einer langsamen Wiederkehr der Muskelkontraktionen. Zeitlicher Ablauf (keine deutliche Gleichgewichtseinstellung nach 25 min) und Ausmaß dieser Erholung (Kontraktionshöhe maximal 8 bis 12% der Ausgangshöhe des ungelähmten Muskels) unterschieden den Eserinantagonismus der BC 9-Lähmung deutlich vom entsprechenden d-TC-Versuch.

IV. Wechselwirkung zwischen d-TC, BC 9 und Eserin.

Nach Kenntnis des Ausmaßes des Eserinantagonismus der BC 9-Lähmung konnten wir nun darangehen, die oben angekündigten Versuche über die Eserinbehebbarkeit einer durch gemeinsame Verabreichung von d-TC und BC 9 hervorgerufenen Zwerchfellähmung auszuführen. Diese Versuche sollten Aufschluß geben, inwieweit eine gegenseitige Verdrängung von d-TC und BC 9 an der Endplattenstruktur des Zwerchfells möglich ist.

Die Versuche wurden in folgender Versuchsanordnung ausgeführt: Nach Vorlähmung mit d-TC (zur Erzielung konstanter Versuchsbedingungen, Begründung siehe I) wurde im sogenannten Vorversuch die Größe des Eserinantagonismus nach der im Punkt I angegebenen Versuchsanordnung bestimmt. Nach eingetretener Erholung (einstündiger Auswaschperiode) wurde der Muskel im darauffolgenden Hauptversuch neuerlich mit der gleichen Dosis d-TC wie im Vorversuch gelähmt, wobei die in den einzelnen Versuchen verwendeten d-TC Dosen zwischen 60 μg und 150 μg/50 cm^3 lagen. Nach Eintritt vollständiger Lähmung erfolgte ein verschieden hoher Zusatz von BC 9 (von 20—502 μg/50 cm^3). Weitere 3 min nach Zusatz des BC 9 wurde eine in allen Versuchen konstante Dosis von 5 μg/50 cm^3 Eserin (berechnet auf Base) zugesetzt und die Erholung der Zwerchfellkontraktionen bis

zum Erreichen eines konstanten Endwertes (in der Regel 20 min) abgewartet. Nach einer weiteren 1stündigen Auswaschperiode wurde im Nachversuch noch einmal mit der gleichen d-TC Dosis wie im Vor- und Hauptversuch der Eserinantagonismus auf die beschriebene Weise bestimmt. Es wurden nur solche Versuche gewertet, bei denen Vor-, Haupt- und Nachversuch einwandfrei und ohne Auftreten stärkerer Ermüdungserscheinungen des Zwerchfellmuskels durchgeführt werden konnten. Insgesamt wurden 12 solche Versuche angestellt.

Abb. 1 gibt einen derartigen Versuch wieder.

Bei allen diesen Versuchen konnte zunächst als wesentliches Ergebnis festgestellt werden, daß unter BC 9-Zusatz die nach Eserinzusatz auftretenden Kontraktionshöhen geringer als im entsprechenden Vor- bzw. Nachversuch waren.

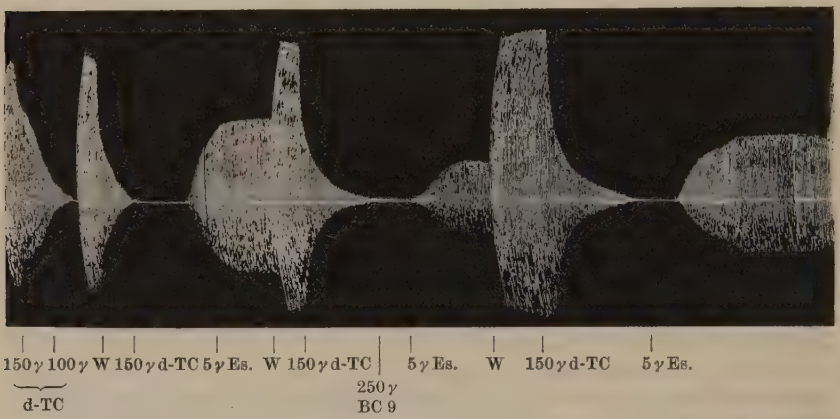


Abb. 2. Isoliertes Zwerchfellphrenicuspräparat der Ratte, Reizfrequenz 6/min, Volumen der Badeflüssigkeit: 50 cm³. Bei W: 1stündige Auswaschperiode; nach Vorlähmung mit d-TC, Curareantagonismus von 5 μg/50 cm³ Eserin (Es.) sowie Curareantagonismus von Eserin bei Anwesenheit von BC 9.

Die zahlenmäßigen Ergebnisse sämtlicher 12 Versuche sind in den ersten 9 Spalten der Tab. 2 niedergelegt. Ein Studium dieser Werte zeigt, daß der Eserinantagonismus im Hauptversuch um so geringer ausfiel, je höher die angewendete BC 9-Dosis im Verhältnis zur verabreichten d-TC-Dosis war.

Für eine zahlenmäßige Auswertung der Versuche der Tab. 2 zu einer Aussage über die Lage des angenommenen Grenzflächengleichgewichtes zwischen d-TC und BC 9 müssen jedoch einige Vereinfachungen für das oben diskutierte Dreistoffgleichgewicht angenommen werden. 1. Soll die an der Endplatte herrschende ACh-Konzentration für alle 12 Versuche als konstant angenommen werden, wofür eine gewisse Berechtigung dadurch gegeben ist, daß in allen Versuchen die gleiche in den Vorversuchen als bereits maximal wirksam befundene Eserindosis zur Anwendung kam. 2. Soll ein Eserinantagonismus des allenfalls durch BC 9 gelähmten Zwerchfellanteils vernachlässigt werden, da sich dieser Antagonismus in den unter Punkt III beschriebenen Versuchen als gering im Verhältnis zum analogen d-TC-Eserineffekt erwiesen hat. 3. Soll angenommen werden, daß sowohl d-TC wie auch BC 9 pro Molekül mit nur je einem Receptorpunkt der Endplattenoberfläche reagieren können.

Unter diesen Voraussetzungen kann nun bei vollständiger Lähmung des Zwerchfells angenommen werden, daß die nach Eserinzusatz erreichte Kontraktionshöhe

im Vor- bzw. Nachversuch proportional der d-TC-Grenzflächensättigungskonzentration, die nach Eserinzusatz erreichte Kontraktionshöhe im Hauptversuch (nach BC 9-Zusatz) proportional der bei Anwesenheit von BC 9 herrschenden d-TC-Grenzflächenkonzentration und die Differenz beider Kontraktionshöhenwerte daher proportional der im Hauptversuch vorherrschenden BC 9-Grenzflächenkonzentration

Tabelle 2.

Nr.	µg d-TC/Chlorid pro 50 cm³	µg BC 9/Jodid pro 50 cm³	Molares Verhältnis d-TC/BC 9	Muskelkontraktionshöhe in mm Vor-, Haupt-, Nach-Versuch: vor d-TC H_1	nach Eserin H_2	vor d-TC H_3	nach Eserin H_4	vor d-TC H_5	nach Eserin H_6	A	B	K
1	60	224	0,25	51	23	56	9,5	53	16	0,38	0,17	3,24
2	70	313	0,21	60	24	66	10	56	21	0,39	0,15	2,97
3	120	320	0,35	84	21	84	9,5	76	25	0,29	0,11	1,75
4	150	347	0,41	44,5	24,5	47	13	50,5	19	0,46	0,28	3,78
5	150	502	0,29	43	12,5	34	4,5	31,5	11	0,32	0,13	2,36
6	100	30	3,11	77	27	62	20,5	54,5	19	0,36	0,33	3,53
7	85	128	0,63	65	42	60	13	39	9	0,44	0,22	1,59
8	80	320	0,24	63	17,5	45	4	38	15	0,33	0,09	1,57
9	150	250	0,57	60	21	57	13	31	8	0,305	0,23	5,37
10	60	20	2,83	65	36	65	22	62	16	0,41	0,33	1,46
11	150	166	0,85	55	24,5	50,5	14	42	13	0,38	0,28	3,29
12	80	150	0,51	59	33,5	59	13,5	56	16	0,43	0,23	2,25
MW												2,76

ist. Unter Benützung der in der schematischen Darstellung der Versuche in Abb. 3 und der in Tab. 2 angegebenen Bezeichnungen, können die drei eben gemachten Feststellungen durch folgende Formeln ausgedrückt werden:

cG_{dTs} = d-TC-Sättigungskonzentr. a. d. Grenzfläche

$cG_{dTs} = C \cdot A$ $\quad C$ = Proportionalitätsfaktor (1)

$$A = \frac{H_2/H_1 + H_6/H_5}{2}$$

$cG_{dT} = C \cdot B$ $\quad B = H_4/H_3$ (2)

cG_{dT} = d-TC-Grenzflächenkonzentration

$cG_{BC} = C \cdot (A - B)$ $\quad cG_{BC}$ = BC 9-Grenzflächenkonzentration, (3)

wobei die Kontraktionshöhen nach Eserinzusatz im Vor-, Haupt- und Nachversuch (H_2, H_4, H_6) auf die entsprechenden Ausgangshöhen des ungelähmten Muskels bezogen wurden (Division durch H_1, bzw. H_3, H_5) und überdies zur Berücksichtigung einer aufgetretenen Ermüdung des Präparates als Maßzahl für die Eserinantagonisierbarkeit der reinen d-TC-Lähmung das arithmetische Mittel der reduzierten Kontraktionshöhen von Vor- und Nachversuch genommen wurde.

Bei Vorliegen eines Grenzflächengleichgewichtes zwischen d-TC und BC 9 im Hauptversuch nach Einstellung konstanter Kontraktionshöhen auf Eserinzusatz müssen die tatsächlich vorherrschenden Grenzflächenkonzentrationen von d-TC und BC 9 in einem proportionalen Zusammenhang zu den in der Badeflüssigkeit vorhandenen d-TC- bzw. BC 9-Konzentrationen stehen. Diese Beziehung läßt sich

mathematisch unter Verwendung der Formeln (1), (2) u. (3) folgendermaßen ausdrücken:

$$K \cdot \frac{c_{dT}}{c_{BC}} = \frac{B}{A - B}. \tag{4}$$

Eine genauere Ableitung dieser Formel aus den Grenzflächengleichgewichten läßt sich auf folgende Weise durchführen:

Zunächst sei davon ausgegangen, daß die Zahl der an der Endplattengrenzfläche für die Adsorption von d-TC- bzw. BC 9-Molekülen vorhandenen Plätze begrenzt ist. Bezeichnen wir nun den Bruchteil der aktiven Endplattengrenzfläche, der mit d-TC besetzt ist, mit O_{dT} und den Bruchteil der mit BC 9 besetzt ist mit O_{BC}, so ist $1 - O_{dT} - O_{BC}$ der von beiden Substanzen unbesetzte Teil der Endplattengrenzfläche. Im Grenzfall, daß eine der beiden Substanzen in unendlich großem

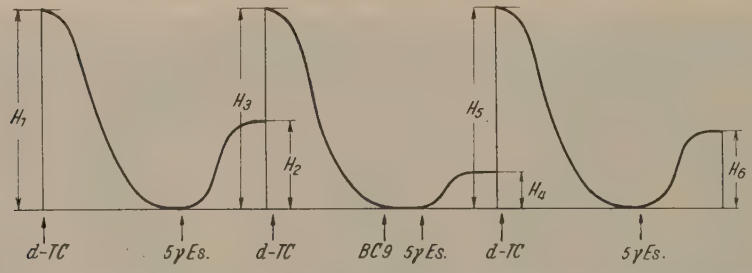


Abb. 3. Schematische Darstellung des in Abb. 1 wiedergegebenen Versuches am isolierten Zwerchfell-phrenicuspräparat.

Überschuß in der Badelösung vorhanden ist, erreicht die betreffende Grenzflächenkonzentration ihren Sättigungswert, was gleichbedeutend ist mit der kompletten Besetzung der Grenzfläche mit einer Substanz allein. Für d-TC wird in diesem Falle $cG_{dT} = cG_{dTs}$ und $O_{dT} = 1$. Aus diesen 4 Beziehungen können die beiden folgenden Gleichungen gebildet werden:

$$O_{dT} = cG_{dT}/cG_{dTs} \tag{5}$$

$$\text{und } O_{BC} = cG_{BC}/cG_{BCs}. \tag{6}$$

Eine Einstellung des Grenzflächengleichgewichtes tritt dann ein, wenn die An- und Abdiffusion zu und von der Grenzfläche für beide Substanzen einen konstanten Wert erreicht hat oder mit anderen Worten für jede der beiden Substanzen die Geschwindigkeit der Adsorption gleich der Geschwindigkeit der Desorption geworden ist. Nun sind bei der oben zunächst angenommenen einmolekularen Reaktionsweise beider Substanzen mit dem Endplattenreceptor die Desorptionsgeschwindigkeiten proportional der Zahl der durch die betreffende Substanz besetzten Plätze und die Adsorptionsgeschwindigkeiten proportional der Zahl der an der Grenzfläche freien Plätze und der jeweiligen Substanzkonzentration in der Badeflüssigkeit. Aus diesen Überlegungen ergeben sich die folgenden Gleichungen, wobei mit w^+ die Adsorptionsgeschwindigkeiten und mit w^- die Desorptionsgeschwindigkeiten und die Geschwindigkeitskonstanten mit k bezeichnet werden.

$$w^-_{dT} = k^+_{dT} \cdot c_{dT} \cdot (1 - O_{dT} - O_{BC}) \tag{7}$$

$$w^-_{dT} = k_{dT} \cdot O_{dT} \tag{8}$$

$$w^-_{BC} = k^+_{BC} \cdot c_{BC} \cdot (1 - O_{dT} - O_{BC}) \tag{9}$$

$$w^-_{BC} = k^-_{BC} \cdot O_{BC}. \tag{10}$$

Durch Gleichsetzung der Adsorptionsgeschwindigkeiten mit den Desorptionsgeschwindigkeiten und unter Einbeziehung der Gl. (5) bzw. (6) erhält man

$$k^{+}_{dT} \cdot c_{dT} \cdot \left(1 - \frac{cG_{dT}}{cG_{dTs}} - \frac{cG_{BC}}{cG_{BCs}}\right) = \frac{k^{-}_{dT} \cdot cG_{dT}}{cG_{dTs}} \tag{11}$$

$$k^{+}_{BC} \cdot c_{BC} \cdot \left(1 - \frac{cG_{dT}}{cG_{dTs}} - \frac{cG_{BC}}{cG_{BCs}}\right) = \frac{k^{-}_{BC} \cdot cG_{BC}}{cG_{BCs}} . \tag{12}$$

Durch Division der beiden Gleichungen und Zusammenlegung der Geschwindigkeitskonstanten ergibt sich folgende Gleichung:

$$\frac{k^{+}_{dT}}{k^{-}_{dT}} \cdot \frac{k^{-}_{BC}}{k^{+}_{BC}} \cdot \frac{c_{dT}}{c_{BC}} = \frac{cG_{dT}}{cG_{dTs}} \cdot \frac{cG_{BCs}}{cG_{BC}} . \tag{13}$$

Nun ist für jede Substanz der Quotient der beiden Geschwindigkeitskonstanten gleich der Konstanten des Grenzflächengleichgewichtes. Daher ergibt sich:

$$\frac{k^{+}_{dT}}{k^{-}_{dT}} = K_{dT} \tag{14}$$

und

$$\frac{k^{+}_{BC}}{k^{-}_{BC}} = K_{BC} . \tag{15}$$

Nun müssen noch in Gl. (13) die Grenzflächenkonzentrationen durch die in unseren Experimenten gefundenen und den Grenzflächen proportionalen Bestimmungsgrößen ersetzt werden. Dies geschieht durch Einsetzen der Gl. (1), (2) und (3) in Gl. (13). Für cG_{BCs} die bisher nicht durch unsere Meßgrößen ausgedrückt werden konnte, muß folgende Überlegung durchgeführt werden: Unter der Annahme, daß an jedem Endplattenreceptor je 1 Molekül d-TC oder BC 9 wahlweise herantreten kann, wird $cG_{BCs} = cG_{dTs}$ da im Sättigungsfalle die Endplatte genau so viele d-TC- wie BC 9-Moleküle aufnehmen kann. Nach Durchführung der entsprechenden Substitution in Gl. (13) erhält man daher:

$$\frac{K_{dT}}{K_{BC}} \cdot \frac{c_{dT}}{c_{BC}} = \frac{B}{A - B} . \tag{16}$$

Unter der Annahme einer gleichen molekularen Reaktionsweise von d-TC und BC 9 an der Endplatte wird Gl. (16) identisch mit Gl. (4), wobei jetzt ersichtlich wird, daß die Konstante in Gl. (4) das Verhältnis der Grenzflächenkonstanten (Affinitätskonstanten) von d-TC und BC 9 bedeutet.

$$K = \frac{K_{dT}}{K_{BC}} . \tag{17}$$

Einsetzen der in den 12 Versuchen bestimmten Meßwerte in Gl. (4) führte zur Ermittlung der in Tab. 1, Sp. 12 angegebenen Werte für die Konstante K. Trotzdem von vornherein durch die Schwierigkeit der Versuchsanordnung mit dem Auftreten einer beträchtlichen Streuung gerechnet werden mußte, liegen die ermittelten K-Werte untereinander in der gleichen Größenordnung.

Um festzustellen, daß die einzelnen K-Werte in keinem funktionellen Zusammenhang mit den in den Versuchen eingestellten Konzentrationsverhältnissen von d-TC zu BC 9 stehen, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Hierbei ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $r = -0{,}051$ bzw. ein Bestimmtheitsmaß $B = 0{,}0026$. Daraus geht hervor, daß eine funktionelle Abhängigkeit der

Konzentrationsverhältnisse (Tab. 2, Spalte 3) von den Werten der Konstante K (Tab. 2, Spalte 12) mit Sicherheit (Wahrscheinlichkeit $P \gg 0{,}05$) ausgeschlossen werden kann und die Schwankungen der Zahlenwerte von K innerhalb der einzelnen Versuche nur durch die Streuung der Versuchsergebnisse bedingt ist.

Damit scheint die Annahme, daß die Wechselwirkung von d-TC und BC 9 an der Endplatte nach den Gesetzmöglichkeiten einfacher Grenzflächengleichgewichte erfolgt, in hohem Grade wahrscheinlich gemacht. Der aus den Versuchen berechnete Mittelwert der Konstanten K von 2,76 sagt nun aus, daß d-TC eine rund 3mal größere Affinität zur Endplatte besitzt, als BC 9, da nach Gl. (17) K gleich dem Verhältnis der Affinitätskonstanten von d-TC zu BC 9 ist. Diese letzte Folgerung besitzt allerdings nur dann Gültigkeit, wenn unsere Annahme eines unimolekularen Reaktionsmechanismus von d-TC und BC 9 mit den Endplattenreceptoren richtig ist. Eine Nachprüfung der Richtigkeit dieser Annahme kann mit Hilfe der den Versuchen der Tab. 2 zugrunde liegenden Versuchsanordnung nicht durchgeführt werden. Es wäre aber immerhin denkbar, daß die sicher kleinere Molekulargröße des BC 9-Kations eine stärkere Besetzungsmöglichkeit der Endplattenoberfläche durch BC 9 gegenüber d-TC zuließe. In einem solchen Falle würde c_{BC} mit einem entsprechenden Exponenten in Gl. (16) eingehen und dadurch die Konstante K einen bedeutend größeren Wert als in Tab. 2 (Sp. 12) annehmen (z. B. für Annahme einer Reaktion von 2 Mol BC 9 mit einem Endplattenreceptor rund 30,0, also 10fach höher).

Einen gewissen Hinweis auf die Reaktionsart von BC 9 und d-TC glauben wir jedoch aus dem Vergleich der Wirkungsstärke von d-TC und BC 9 am Rattenzwerchfellpräparat ableiten zu können, da anzunehmen ist, daß die Wirkung in engem Zusammenhang mit der Affinität der betreffenden Substanz zur Endplatte und damit nach unseren vorherigen Überlegungen zur Affinitätskonstanten steht. Im Falle der Richtigkeit unserer Annahme einer beiderseits unimolekularen Reaktion sollte daher der Quotient der Wirkungsstärken von d-TC u. BC 9 einen ähnlichen Zahlenwert wie der Mittelwert der Konstanten K in Tab. 2 geben. Ein Vergleich der in unseren Versuchen gefundenen Mittelwerte der für eine 100%ige Lähmung notwendigen minimalen Dosen von d-TC-chlorid (80 μg $=$ 0,115 μM/50 cm^3) und BC 9 J (200 μg $=$ 0,304 μM/50 cm^3) ergibt eine relative Wirksamkeit (d-TC gegenüber BC 9) von 2,64. Dieser Wert steht in ausgezeichneter Übereinstimmung mit dem Mittelwert der Konstanten der Tab. 2 von 2,76. Damit scheint die Annahme, daß BC 9 und d-TC sich hinsichtlich Oberflächenausfüllung und Anzahl der mit einem aktiven Receptorpunkt in Reaktion tretenden Moleküle ähnlich verhalten, weitgehend gerechtfertigt.

Eine weitere Prüfung über das Vorhandensein echter Grenzflächengleichgewichte kann durch einen Nachweis der Reversibilität der zum Gleichgewicht führenden Vorgänge gebracht werden. Dies kann in unserem Falle so durchgeführt werden, daß die Reihenfolge der d-TC- bzw. BC 9-Zusätze umgekehrt werden kann, ohne daß die aus der nachfolgenden Eserinantagonisierbarkeit erkenntliche Gleichgewichtseinstellung größenordnungsmäßig weitgehend verändert wird. Für die

Beurteilung derartiger Versuche war es allerdings notwendig, zuerst die Wirkung von d-TC allein auf den durch BC 9 vollständig gelähmten Zwerchfellmuskel zu studieren. Außerdem beschränkten wir uns bei dieser Versuchsserie auf das Studium eines einzigen Konzentrationsverhältnisses von d-TC und BC 9 (80 μg/50 cm^3 d-TC und 200 μg/50 cm^3 BC 9).

V. Aufhebbarkeit einer vollständigen BC 9-Lähmung durch d-TC allein bzw. durch d-TC und nachfolgendem Eserinzusatz.

Zunächst wurden 8 Versuche durchgeführt, bei denen zuerst der Zwerchfellmuskel durch Dosen von 150—200 μg/50 cm^3 BC 9 vollkommen gelähmt wurde; darnach wurde in allen Versuchen die gleiche d-TC-Dosis (80 μg/50 cm^3) zugesetzt und das Verhalten des Zwerchfells weitere 20 min beobachtet. In 4 der 8 Versuche konnte nach d-TC-Zusatz kein Wiederauftreten der Kontraktionen beobachtet werden. Bei den restlichen 4 Präparaten setzte nach d-TC-Zusatz ein Wiederauftreten der Kontraktionen ein, die jedoch nur äußerst langsam an Höhe zunahmen und nur in 2 Fällen (20—25 min nach d-TC) ein konstantes Niveau von etwa 10% der Ausgangshöhe des ungelähmten Muskels erreichten. Der langsame Verlauf dieses Vorganges sowie die geringgradige Erholung stehen auch hier, ähnlich wie bei den unter III. beschriebenen Versuchen (Antagonismus BC 9 — Eserin), in deutlichem Gegensatz zu dem Verhalten der Eserinerholung nach d-TC-Lähmung.

Wurden nun diese Versuche in der gleichen Weise wiederholt, jedoch 3—5 min nach dem d-TC-Zusatz 5 μg Eserin der Badeflüssigkeit zugefügt, so konnten wir 30—50 sec später das Wiederauftreten bzw. wenn dies durch den vorangegangenen d-TC-Zusatz bereits erfolgt war, eine plötzlich einsetzende Zunahme der Kontraktionshöhe der Muskelzuckungen beobachten. Ein derartiger Versuch ist in Abb. 4 wiedergegeben. Wie ein Vergleich dieser Abbildung mit den Versuchen der Abb. 2 ergibt, entspricht der Kurvenverlauf des zuletzt beschriebenen Versuches (BC 9-Lähmung, d-TC, Eserin) sowohl dem Kurvenverlauf einer Curarelähmung, die durch Eserinzusatz antagonisiert wurde, als auch dem Kurvenverlauf der Eserinantagonisierung der mit d-TC zuerst vollständig gelähmten und hernach mit BC 9 behandelten Muskelpräparate. Dieser Befund spricht für die Reversibilität der beobachteten Vorgänge und stützt neuerlich unsere Annahme der Einstellung von Grenzflächengleichgewichten zwischen d-TC und BC 9 an der Endplatte.

Einer Ausweitung dieser Schlußfolgerungen und Auswertung unserer Versuchsergebnisse auf Beweisführungen und Aussagen über Vorhandensein bzw. Lage eines unter unseren Versuchsbedingungen vorliegenden Dreistoffgleichgewichtes zwischen ACh, d-TC und BC 9 stehen eine Reihe prinzipieller Schwierigkeiten im Wege, die teils durch ein widersprechendes Verhalten einzelner experimenteller Befunde, teils auch durch eine Reihe von Vernachlässigungen in der rein thermodynamischen

Ableitung und Auswertung unserer Versuchsergebnisse entstehen. So müßte bei Annahme echter Grenzflächengleichgewichte Acetylcholin in den unter Eserin vorliegenden Konzentrationen imstande sein, BC 9 weitestgehend von der Endplattenoberfläche zu verdrängen, da unter diesen Umständen d-TC durch ACh von der Endplatte verdrängt wird, d-TC jedoch nach unseren Ausführungen noch immer eine dreifach stärkere Affinität zur Endplatte als BC 9 besitzen soll. In unseren Versuchen über die Eserinantagonisierbarkeit der BC 9-Lähmung ließ sich jedoch nur eine schwache Aufhebung der Lähmung als Zeichen einer Verdrängung des BC 9 durch das freiwerdende ACh von der Endplatte nachweisen. Weiter muß als

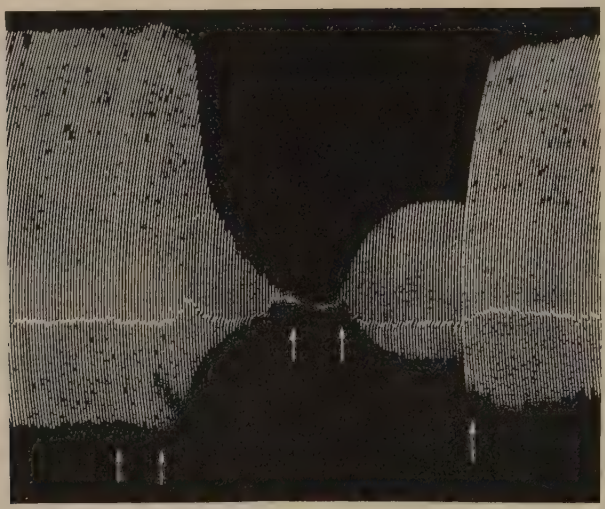


Abb. 4. Isoliertes Zwerchfellphrenicuspräparat der Ratte, Reizfrequenz 6/min, Volumen der Badeflüssigkeit: 50 cm³. Antagonisierbarkeit einer BC 9-Lähmung durch 5 γ/50 cm³ Eserin (Es.) bei Anwesenheit von d-Tubocurarin(d-TC).

Widerspruch zur oben aufgestellten Verdrängungstheorie bezeichnet werden, daß in einigen Versuchen eine wenn auch geringe Aufhebbarkeit einer BC 9-Lähmung durch an sich 100% lähmende d-TC-Dosen beobachtet werden konnte, da hier nach der thermodynamischen Betrachtungsweise nur eine Verdrängung von BC 9 durch d-TC unter gleichzeitiger Überführung der BC 9-Lähmung in eine d-TC-Lähmung vor sich gehen sollte. Zur Erklärung dieser Widersprüche sowie überhaupt zur richtigen Einschätzung unserer theoretischen Überlegungen und Ableitungen müssen abschließend noch folgende Feststellungen getroffen werden. Die von uns als Versuch unternommene rein thermodynamische Auslegung unserer experimentellen Ergebnisse durch das Vorliegen bzw. durch Änderung von Grenzflächengleichgewichten mußte folgende Voraussetzung als zumindest weitgehend zutreffend annehmen: 1. Daß die Einstellung der Gleichgewichte reversibel und zumindest so rasch erfolgte, daß eine weitgehende Einstellung innerhalb der von uns eingehaltenen Versuchszeiten möglich war. 2. Daß die in die Gleichgewichtsreaktionen eintretenden Versuchspartner untereinander keine stärkeren Wechselwirkungen

aufeinander ausüben. 3. Daß die von den Reaktionssubstanzen ausgeübten pharmakologischen Wirkungen im proportionalen Verhältnis zur Anzahl der an der aktiven Endplattenoberfläche absorbierten Moleküle stehen und damit in unseren Ableitungen als Maßzahlen für die Grenzflächenkonzentrationen herangezogen werden konnten. 4. Daß die von den einzelnen Substanzen auf die Grenzflächenstruktur ausgeübten Wirkungen (Depolarisation) untereinander keiner gegenseitigen Beeinflussung unterliegen.

Was nun die erste Voraussetzung betrifft, so scheint sie vor allem bei der Wechselwirkung BC 9-Eserin nicht zuzutreffen, da wir in den unter Punkt III angegebenen Versuchen entweder keine oder eine nur langsam anklingende Aufhebbarkeit der BC 9-Lähmung beobachten konnten, während eine solche bei Anwesenheit von d-TC (Versuchsreihe I, IV, V) rasch einsetzte und verhältnismäßig rasch zur Einstellung eines Gleichgewichtes führte. Dies kann einerseits eine Ursache darin haben, daß BC 9 und ACh infolge ihrer zweifelsohne starken gleichsinnigen Ladungsdichte am quartären Stickstoffatom, eine stärkere Wechselwirkung im Sinne einer gegenseitigen Abstoßung aufeinander ausüben (siehe Voraussetzung 2), wodurch eine rasche Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes verhindert wird. Andererseits kann eine langsame und ungenügende Einstellung des Gleichgewichtes in diesem Falle dadurch vorgetäuscht werden, daß die bei beiden Substanzen vorhandene depolarisierende Eigenwirkung nicht unabhängig voneinander erfolgt, sondern die an sich physiologischerweise zum Erregungsvorgang führende depolarisierende Wirkung des ACh durch Summation zumindest teilweise ebenfalls in eine lähmende Wirkung umgewandelt wird. Hierdurch könnte jedoch der weiter oben angeführte Widerspruch eines geringen Eserinantagonismus gegen die BC 9-Lähmung weitgehend erklärt werden. Gegenseitige Beeinflussung der pharmakologischen Wirkungen ist auch sicher die Ursache für das Auftreten eines geringen Antagonismus des d-TC gegen die BC 9-Lähmung, da ein solcher auf Grund ausschließlicher Gleichgewichtsbetrachtungen nicht zu erwarten war. Eine solche gegenseitige Wechselwirkung zwischen d-TC und depolarisierenden Muskelrelaxantien wurde vor allem bei Untersuchungen an Ganztieren von einer Reihe von Autoren beobachtet[10, 7, 3]. Diese Wechselwirkungen treten am isolierten Zwerchfellphrenicuspräparat weit geringer in Erscheinung (vgl. F. Hobbiger[6], sowie die unter V angeführten Versuchsergebnisse) und anscheinend größenordnungsmäßig hinter die für unsere Gleichgewichtsuntersuchungen wichtigen Effekte der verschiedenen Eserinantagonismen zurück.

Zusammenfassung.

1. Octamethylen-Biscarbaminoylcholin (BC 9), das sich in vitro als starker Hemmkörper beider ChE-Typen erwiesen hatte, zeigte am isolierten Rattenzwerchfellpräparat in Dosen von 2—200 μg/50 cm^3 keinen Antagonismus gegenüber der d-TC-Lähmung. Eserin war in der gleichen Anordnung in Dosen von 2—3 μg/50 cm^3 voll wirksam.

2. Bei gleichzeitiger Verabreichung vollähmender Dosen von d-TC und BC 9 führte nachfolgender Eserinzusatz (5 μg/50 cm^3) zu einer teilweisen Erholung des gelähmten Muskels. Hierbei zeigte es sich, daß der Grad der Eserinantagonisierbarkeit dieser kombinierten d-TC-BC 9-Lähmung vom Verhältnis der d-TC- zur BC 9-Konzentration abhing. Bei stärkerem Überwiegen der BC 9-Konzentration trat eine geringere Erholung nach Eserin auf.

3. Die unter 2. mitgeteilten Ergebnisse wurden durch das Vorliegen eines Grenzflächengleichgewichtes zwischen d-TC und BC 9 gedeutet. Mit Hilfe einer analog der Langmuirschen Adsorptionsisotherme für das Grenzflächengleichgewicht d-TC-BC 9 abgeleiteten Beziehung war es möglich, aus den Versuchsergebnissen das Verhältnis der Affinitätskonstanten von d-TC zu der von BC 9 mit annähernd 3 zu bestimmen.

4. Die Voraussetzungen für die Vornahme von Gleichgewichtsberechnungen, sowie die den Nachweis von Grenzflächengleichgewichten störenden Faktoren wurden angeführt und diskutiert.

Literatur.

[1] Bülbring, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). — [2] Clark, A. J.: Handbuch der experimentellen Pharmakologie. Berlin: Springer 1937. — [3] Dallemagne, M. J., and E. Phillipot: Brit. J. Pharmacol. **7**, 601 (1952). — [4] Guardino, S., and D. Bovet: Rediconti Istituto Superiore di Sanita **12**, 215 (1949). — [5] Herzfeld, E., et Ch. Stumpf: Arch. internat. Pharmacodynamie im Druck (1954). — [6] Hobbiger, F.: Brit. J. Pharmacol. **7**, 223 (1952). — [7] Hutter, O. F., and J. E. Pascoe: Brit. J. Pharmacol. **6**, 691 (1951). — [8] Klupp, H., O. Kraupp, N. Honetz, W. Kobinger et M. Loudon: Arch. internat. Pharmacodynamie **98**, 340 (1954). — [9] Klupp, H., O. Kraupp, H. Stormann, Ch. Stumpf, N. Honetz et W. Kobinger: Arch. internat. Pharmacodynamie **96**, 161 (1953). — [10] Paton, W. D. M., and E. J. Zaimis: Brit. J. Pharmacol. **4**, 381 (1949). — [11] Riker, W. F. jr.: Pharmacol. Rev. **5**, 1 (1953). — [12] Taugner, R., u. A. Fleckenstein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 286 (1950).

Dr. W. Kobinger, Wien/Österreich, Pharmakol. Institut d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 251—259 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
(Kommiss. Direktor: Prof. Dr. W. Schmid).

Über Blutdruckreaktionen auf künstliche Hypo- und Hyperthermie und ihre pharmakologische Beeinflußbarkeit.

Von
H. Breuninger und W. Schmid.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. November 1954.)

Unterkühlung des Gesamtorganismus ruft neben Hypoxie (Barcroft, v. Werz, Lutz) — oder als deren Folge? — eine Ausschüttung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark hervor (Trendelenburg). Als ihre Auswirkung sind Hyperglycämie mit Glucosurie (Cl. Bernard, Geiger), Pulsbeschleunigung und Mydriasis häufig beobachtet worden. An Hunden (Grosse-Brockhoff) und an Kaninchen (Winternitz) wurde eine Erhöhung des Blutdrucks festgestellt; sie wurde jedoch nicht so systematisch untersucht wie die anderen adrenergischen Symptome. Bei eigenen Untersuchungen an Kleintieren fand sich, daß die Steigerung des Blutdrucks, die auf Unterkühlung und überraschenderweise auch auf Überwärmung eintrat, gut reproduzierbar ist. Damit war ein geeigneter Weg gegeben, um auch die Beeinflußbarkeit dieser Kreislaufreaktion zu prüfen, die vor allem im Hinblick auf die klinische Anwendung der „gesteuerten Hypothermie" von erheblicher Bedeutung sein kann.

Methodik.

Bei der Mehrzahl der Versuche wurden weiße Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 200 g verwendet. Der Blutdruck wurde in Urethannarkose (1,0 g Äthylurethan/kg sbc.) nach der blutigen Methode in der li. A. carotis gemessen. Die Tiere waren auf einem blanken Ganzmetalltischchen aufgeschnallt; sie erhielten vor der Operation 1 E. Heparin/g i.v. Die Applikation der Prüfsubstanzen geschah gewöhnlich in eine V. femoralis, nur wenn diese aus technischen Gründen nicht zugänglich war, in eine V. jugularis. Während des ganzen Versuches wurde die Körpertemperatur mittels eines tief in das Rectum eingeführten Quecksilberthermometers verfolgt.

Zunächst wurde versucht, die Veränderungen der Körpertemperatur durch Eintauchen der Tiere in ein Wasserbad zuwege zu bringen. Dabei zeigte es sich jedoch, daß allein beim Ein- und Auslaufen des Wasserbades von indifferenter Temperatur durch die Änderungen des hydrostatischen Druckes Blutdruckschwankungen von 10—30 mm Hg auftraten. Es wurde deshalb die Veränderung der Körpertemperatur durch Anblasen der Tiere mit dem Föhnapparat bewerkstelligt. Auf

diese Weise gelang es mit befriedigender Geschwindigkeit, die Temperatur der Tiere zu verändern: Durch Anblasen mit Kaltluft, die über Eis geleitet wurde, sank am narkotisierten Tier die Rectaltemperatur innerhalb von 10 min um 10° C, bei Anblasen mit Warmluft von etwa 70° C wurde im selben Zeitraum die normale Temperatur um etwa 5° C erhöht bzw. das unterkühlte Tier wieder auf seine Ausgangstemperatur gebracht.

Die Versuche wurden in der Regel so durchgeführt, daß etwa 10 min nach Beendigung der Operation die Tiere von 38° C auf 30° C abgekühlt wurden. Kurz nach Erreichen dieser Temperatur erfolgte die Wiederaufwärmung auf die Ausgangstemperatur. Nach Normalisierung der Blutdruckwerte wurde die Prüfsubstanz injiziert und die künstliche Temperaturveränderung wiederholt. Jede Prüfsubstanz und jede Dosis wurde an mehreren Tieren untersucht.

Das Verhalten des Blutdrucks bei rascher Abkühlung. Wurden Ratten innerhalb von 10—15 min auf 27—30° C Rectaltemperatur heruntergekühlt, so stieg in den ersten 10—15 min der Blutdruck stetig um

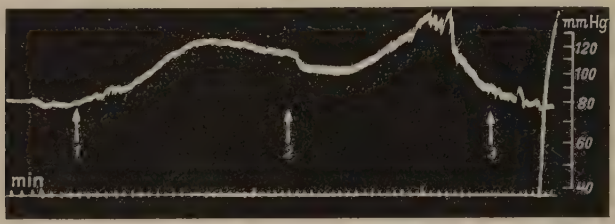


Abb. 1. Ratte ♀ 190 g. Urethannarkose. Anfangstemperatur 37° C rectal. Bei *1* Beginn der Unterkühlung. Bei *2* ist eine Körpertemperatur von 27° C rectal erreicht, Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *3* Rectaltemperatur von 37° C erreicht, Ende der Aufwärmung.

30—60 mm Hg an. Der Höhepunkt des Anstiegs war meist schon bei 32° C erreicht. Von da an wurde das erreichte Niveau gehalten, auch wenn die Tiere weiter bis auf 27° C gekühlt wurden (Abb. 1). Wurde die Temperatur noch weiter gesenkt, so fiel der Blutdruck wieder langsam ab. Bei 20° C rectal erfolgte der Tod der Tiere durch Atemstillstand vor dem endgültigen Abfall des Blutdrucks auf Null. Wurde nicht weiter als bis 22° C gekühlt, so gelang es fast immer, die Tiere durch rasches Anwärmen am Leben zu halten. Die Temperatur des Herzblutes der an der Unterkühlung gestorbenen Tiere war, wohl als Folge der Zentrierung des Kreislaufes, um 1—1,5° C höher als die Rectaltemperatur zum Zeitpunkt des Todes.

Verhalten des Blutdrucks bei rascher Anwärmung. Wurden normale narkotisierte Tiere um 2—3° C überwärmt, so trat nach 1—2 min dauernden geringfügigen Blutdruckschwankungen eine rasche und auffallend starke Erhöhung des arteriellen Druckes ein. Nach Erreichen einer Rectaltemperatur von etwa 41° C sank der Blutdruck mehr oder weniger langsam ab und fiel erst beim Atemstillstand des Tieres bei 44—45° C kritisch ab (Abb. 2). Wenn die Tiere aus der Auskühlung heraus rasch

aufgewärmt wurden, ging die Kälteerhöhung des Blutdrucks nach kurzdauerndem Abfall in den Erwärmungsanstieg über. Bis zum Erreichen der normalen Körpertemperatur sank der Blutdruck dann wieder auf seinen Ausgangswert ab (Abb. 1).

Sowohl die Kälte- als auch die Wärmereaktion konnten am selben Tier mehrere Male ausgelöst werden, ohne daß sich wesentliche Unterschiede in ihrem Ausmaß und ihrem Gesamtbilde bemerkbar machten.

Goldhamster und Meerschweinchen wiesen die gleiche Reaktion bei der Veränderung ihrer Körpertemperatur auf wie die Ratte.

Versuche zum Mechanismus der Blutdruckreaktion. Nach beidseitiger *Epinephrectomie* (an Ratte und Meerschweinchen) traten in den ersten 5 Std bei der ersten Unterkühlung und bei der Wiederaufwärmung prinzipiell noch die gleichen Blutdruckreaktionen auf wie am Normaltier, doch erfolgte regelmäßig gegen Ende der Aufwärmung der Tod an Atemstillstand. Nach Ablauf von 5 Std riefen die thermischen Einwirkungen keinerlei Veränderung am Blutdruck mehr hervor. Auch nach *Decapitation* blieb die Blutdruckreaktion aus. Die bei der Decapitation regelmäßig vorhandene Blutdrucksenkung ist nicht die Ursache für das Ausbleiben des Blutdruckanstiegs (vgl. unten S. 255).

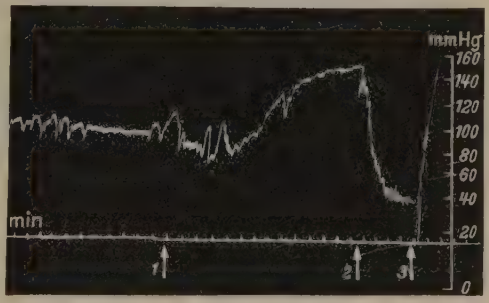


Abb. 2. Ratte ♂ 210 g. Urethannarkose. Anfangstemperatur 37,5° C rectal. Bei *1* Beginn der Überwärmung, bei *2* ist eine Rectaltemperatur von 39,5° C erreicht. Bei *3* Atemstillstand bei 44° C Rectaltemperatur.

Die Bedeutung der *Thermoreceptoren* der Haut wurde in der Weise geprüft, daß auf rasierte Bezirke der Bauchhaut von 3—5 cm Durchmesser für wenige Sekunden Metallplättchen aufgesetzt wurden, deren Temperatur im Bereich von 0—90° C abgestuft war. Während bei Temperaturen zwischen 20 und 50° keine deutlichen Blutdruckveränderungen auftraten, kam es in den übrigen Bereichen zu einem 1—3 min dauernden Blutdruckabfall um etwa 15 mm Hg, er ließ sich aber in der gleichen Weise auch durch andere Hautreize, wie kräftiges Kneifen, erzeugen. Demnach dürfte der Einfluß eines spezifischen peripheren Temperaturreizes auf die geprüfte Blutdruckreaktion sehr gering sein.

Die Bedeutung des *Carotissinus* wurde am Kaninchen untersucht. Er wurde einseitig unter einem Druck von 120 mm Hg in raschem Wechsel mit körperwarmer, auf 14° C gekühlter, oder auf 42° C angewärmter Tyrodelösung durchströmt. Eine Änderung des Blutdrucks wurde dabei nicht beobachtet. Dieser Befund stimmt mit Ergebnissen von Zbyszewski, Tournade, Malméjac und Jourdan überein, die mit ähnlicher Anordnung ebenfalls keinen eindeutigen Einfluß auf den Blutdruck feststellen konnten.

Die beidseitige *Vagotomie* war ohne deutlichen Einfluß auf den Ablauf der Blutdruckreaktionen.

Die Ansprechbarkeit auf *Adrenalin* und *Arterenol* war bei einer Rectaltemperatur des Versuchstieres von 27° C voll erhalten. Die Blutdrucksteigerung nach i.v. Injektion der beiden Substanzen (je 20 γ/kg) war bei dieser erniedrigten Körpertemperatur gleich groß wie bei normaler, der Blutdruckanstieg hielt jedoch länger an.

Pharmakologische Beeinflußbarkeit der Temperaturreaktionen.

1. Allgemeinnarkose. Bei Vertiefung der Basisnarkose durch Ätherinhalation wurde sowohl die Abkühlungs- als auch die Aufwärmungsreaktion erst nach Erreichen des tiefsten Toleranzstadiums aufgehoben. Auch Phenyl-äthylbarbitursäure (Luminal) und N-Methyl-cyclohexenylmethylbarbitursäure (Evipan) wirkten erst bei tiefster Narkose (je 40 mg/kg) unterdrückend.

2. Morphingruppe. Morphin. hydrochlor. zeigte keine Beeinflussung der beiden Reaktionen bis zu Dosen, die den Blutdruck senkten und die Atmung verlangsamten (10 mg/kg). Ohne Effekt war auch 2-Dimethylamino-4-4-diphenyl-heptanon hydrochl. (Polamidon) bei 1 mg/kg. (Höhere Dosen konnten nicht verwendet werden, da sie schwere Atemstörungen hervorriefen.) Dagegen unterdrückte 1-Methyl-4-phenylpiperidincarbonsäure-äthylester (Dolantin) schon bei 1 mg/kg die Abkühlungsreaktion regelmäßig; bei der höheren Dosis von 2 mg/kg war auch die Anwärmungsreaktion stark abgeschwächt oder ganz aufgehoben. Das dem Dolantin nahe verwandte 1-Methyl-4-(m-oxyphenyl)-4-propionylpiperidin hydrochlor. (Cliradon) wirkte in derselben Dosis wie Dolantin, aber deutlich schwächer. Es dämpfte den Kälteeffekt nur ab und ließ die Anwärmungsreaktion völlig unbeeinflußt. In derselben Weise wie das Cliradon wirkte auch l-3-Oxy-N-methylmorphinontartrat (Dromoran).

3. Pyrazolone. Dimethylaminophenazon (Pyramidon) unterdrückte schon in der Dosis von 30 mg/kg, die die Körpertemperatur am Normaltier sicher nicht beeinflußt, die Abkühlungs- und Anwärmungsreaktion regelmäßig und vollständig (Abb. 3). Die Kombination von Dimethylaminophenazon und Butazolidin (Irgapyrin) zeigte im selben Dosenbereich eine gleichstarke Wirkung wie Pyramidon allein. Am Normaltier zeigte sich der Blutdruckanstieg auf Adrenalin und Arterenol nach Vorinjektion von gleichen Dosen dieser Pyrazolonderivate verstärkt. Die Hemmwirkung der Pyrazolone ist also nicht durch periphere Angriffspunkte bedingt.

Natrium salicylicum und *Salicylamid* wirkten sehr viel schwächer, erst bei 0,3 g/kg wurde der Abkühlungsanstieg gedämpft, während die Anwärmungsreaktion überhaupt nicht beeinflußt wurde. Allerdings hatte

diese Dosierung beim nicht narkotisierten Tier noch keine Senkung der Körpertemperatur ergeben.

4. Vegetative Pharmaka. Atropin. sulf. 5 mg/kg, Scopolamin. hydrobrom. 2 mg/kg und Hyoscin-N-butylbrom. (Buscopan) 10 mg/kg veränderten die beiden Reaktionen in keiner Weise.

Bei Ergomintartrat kam es zu einer bemerkenswerten Abwandlung: Zunächst trat nach Injektion von 1 mg/kg als Eigenwirkung ein Blutdruckanstieg um 10—20 mm Hg auf, wie er von Rothlin am Kaninchen beschrieben ist. Bei der Unterkühlung fehlte die typische Steigerung des Blutdrucks; bei der Wiederaufwärmung dagegen stieg der Blutdruck stetig

Abb. 3. Ratte ♂ 180 g. Urethannarkose. Anfangstemperatur 37° C rectal. Bei *1* Beginn der Unterkühlung; bei *2* Rectaltemperatur 30° C; Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *3* Rectaltemperatur 37° C; Ende der Aufwärmung. Bei *4* 10 mg Pyramidon/kg i.v. Bei *5* Beginn der Unterkühlung. Bei *6* Rectaltemperatur 30° C; Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *7* Rectaltemperatur 37° C; Ende der Aufwärmung. Bei *8* Injektion von 30 mg Pyramidon/kg i.v. Bei *9* Beginn der Unterkühlung. Bei *10* Rectaltemperatur 30° C; Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *11* 37° C rectal erreicht.

an und blieb nach Erreichen der Ausgangstemperatur — statt abzufallen — auf erhöhtem Niveau stehen. Bei weiterer Erwärmung setzte ein weiterer Druckanstieg ein, so daß — im Gegensatz zum regelmäßigen starken Abfall beim unbehandelten Tier — bei 45—46° C sehr hohe Blutdruckwerte erreicht wurden, bis schließlich der Tod durch Atemstillstand eintrat.

Die neuen Sympathicolytica NN-Dibenzyl-β-chloräthylamin-chlorhydrat (Dibenamin) und 2-(N-p-Tolyl-N-m-oxyphenyl-amino-methyl)-imidazolin (Regitin) bewirkten einen starken Blutdruckabfall. Erst bei diesen blutdrucksenkenden Dosen waren beide Temperaturreaktionen unterdrückt (Dibenamin 5 mg/kg, Regitin 0,1 mg/kg). Daß die Blutdrucksenkung selbst an der Unterdrückung der beiden Reaktionen sicher nicht ursächlich beteiligt ist, geht aus folgendem hervor: Bei Hydergin (0,3 mg/kg) kam es zu einer starken Senkung des Blutdrucks, ohne daß Abkühlungs- und Erwärmungsreaktion deutlich verändert waren. In gleicher Weise traten bei einer Blutdruckerniedrigung um 20—30 mm Hg, die durch Aderlaß erzeugt worden war, die beiden Reaktionen noch in unveränderter Stärke ein.

5. Ganglienblocker. N,N,N′,N′-3-Pentamethyl-N,N′diäthyl-3-azapentylen-1,5-diammonium-dibromid (Pendiomid) und Pentamethylen-bis-(trimethylammonium)-dibromid (Penthonium) führten in Dosen bis

zu je 10 mg/kg zu einer Blutdrucksenkung, die Temperaturreaktionen wurden aber nicht beeinflußt. Dagegen verhinderte p-Amino-N(2-diäthylamino-äthyl)-benzamid (Novocamid) eine Zeitlang (etwa 7—8 min nach Injektion von 10 mg/kg) den Kälte- und Wärmeanstieg. Dann setzte die Reaktion aber doch noch ein, wahrscheinlich, weil in der Zwischenzeit die Substanz abgebaut worden war (Abb. 4). Nach 15 mg/kg Spartein-sulfat unterblieben Kälte- und Wärmereaktion vollständig.

6. Antihistaminica. Das p-aminosalicylsaure Salz des 1-Phenyl-1-pyridyl-(2′)-3-dimethyl-aminopropan (Avil) hatte bei einer Dosierung von 10 mg/kg keine Wirkung, N-Phenyl-N-benzyl-4-amino-1-methylpiperidin (Soventol) bei sehr hoher Dosierung von 25 mg/kg höchstens eine

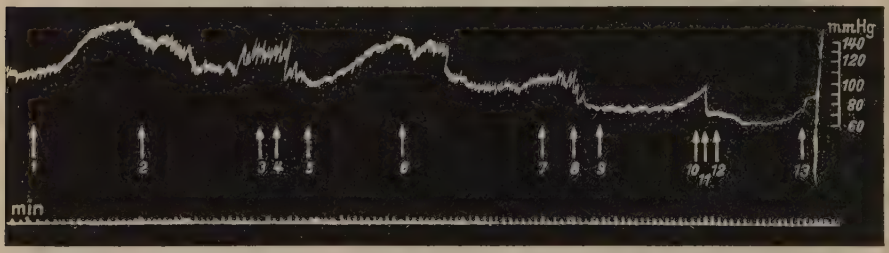


Abb. 4. Ratte ♀ 175 g. Urethannarkose. Anfangstemperatur 37° C rectal. Bei *1* Beginn der Unterkühlung. Bei *2* Rectaltemperatur von 30° C erreicht, Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *3* Rectaltemperatur von 37° C erreicht, Ende der Aufwärmung. Bei *4* Injektion von 1 mg Novocainamid/kg. Bei *5* Beginn der Unterkühlung. Bei *6* Rectaltemperatur von 30° C erreicht, Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *7* Rectaltemperatur von 37° C erreicht, Ende der Aufwärmung. Bei *8* Injektion von 10 mg Novocainamid/kg i.v. Bei *9* Beginn der Unterkühlung. Bei *10* Rectaltemperatur von 30° C erreicht, Ende der Unterkühlung. Bei *11* 10 mg Novocainamid/kg i.v. Bei *12* Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *13* Rectaltemperatur von 37° C erreicht, Aufwärmung beendet.

schwache Hemmwirkung auf die Abkühlungsreaktion bei unbeeinflußter Wärmereaktion.

Von den *Phenothiazinabkömmlingen* war das Methylenblau ohne Hemmwirkung (1—10 mg/kg); der Kälte- und Wärmeanstieg war sogar verstärkt. (Auch am Normaltier fanden wir eine Erhöhung des Blutdruckanstieges auf Adrenalin und Arterenol nach Vorinjektion der gleichen Methylenblaudosen.) N(2′-Dimethyl-amino-2′-methyl)äthylphenothiazin (Atosil) und N-(2′-Diäthyl-amino-äthyl)-phenothiazin (Latibon) wirkten dagegen hemmend. Sie unterdrückten die Kältereaktion, ließen aber die Wärmereaktion unbeeinflußt (Atosil 5 mg/kg, Latibon 15 mg/kg). Die Wirkung des Atosil erwies sich also bei der Unterdrückung der Kältereaktion als 3 mal so stark wie die des Latibon. Bemerkenswerterweise war nach Vorinjektion von Atosil der Blutdruckanstieg auf Adrenalin und Arterenol bei Katze und Hund nicht abgeschwächt, sondern eher verstärkt.

Die stärkste Wirkung aller geprüften Substanzen zeigte das N-(3′-Dimethylamino)-propyl-3-chlorphenothiazin (Megaphen). Nach Injektion

von 2 mg/kg, durch die sich der Blutdruck um etwa 20 mm Hg erniedrigte, war in allen Fällen keine Reaktion auf Abkühlung oder Anwärmung mehr vorhanden (Abb. 5). Megaphen erzeugte wie bei anderen Untersuchern (Marquardt und Schumacher) nach Vorinjektion von 1—5 mg/kg bei Katze und Kaninchen eine Hemmung der Adrenalinwirkung oder sogar eine Umkehr, aber keine Abschwächung oder Umkehr der Arterenolwirkung; an der Ratte hemmte es auch Arterenol.

7. Zentral erregende Substanzen. Pentamethylentetrazol (Cardiazol) und 1-Phenyl-2-methyl-amino-propran hydrochlor. (Pervitin) (je 5 mg/kg)

Abb. 5. Ratte ♀ 190 g. Urethannarkose. Anfangstemperatur 37° C rectal. Bei *1* Injektion von 2 mg Megaphen/kg i.v. Bei *2* Beginn der Unterkühlung. Bei *3* ist eine Rectaltemperatur von 30° C erreicht, Beginn der Wiederaufwärmung. Bei *4* Rectaltemperatur von 37° C erreicht, Ende der Wiederaufwärmung.

erzeugten als Eigenwirkung eine Blutdruckerhöhung um etwa 20 mm Hg. Die Kälte- und Wärmereaktionen verliefen auf dem erhöhten Drucknivcau unverändert.

Besprechung der Ergebnisse.

Der am Kleintier festgestellte Anstieg des Blutdrucks bei rascher Unterkühlung gehört zum Komplex der zentral ausgelösten Notfallfunktion nach Cannon. Dafür spricht sein Fehlen am decapitierten Tier und seine Unterdrückbarkeit durch tiefste Narkose, ebenso wie der Befund, daß nach Epinephrectomie keine Blutdrucksteigerung mehr eintrat. Dem Blutdruckanstieg bei Überwärmung und bei Wiedererwärmung scheint ein ähnlicher Mechanismus zu Grunde zu liegen, denn auch hier wird die Erhöhung bei operativer und medikamentöser Ausschaltung des Zentralnervensystems sowie am nebennierenlosen Tier vermißt. Damit stimmt gut überein, daß andere Autoren im heißen Bad eine Adrenalinausschüttung fanden (Trendelenburg).

Bei der Untersuchung der pharmakologischen Beeinflußbarkeit des Abkühlungs- und Erwärmungsanstiegs zeigte sich, daß zentral wirksame Pharmaka sehr differente Angriffspunkte aufweisen können. Daß beide Reaktionen durch tiefste Narkose unterdrückt werden, ist verständlich;

es erscheint aber bemerkenswert, daß Luminal sich keinesfalls wirksamer erwies als Evipan. Dies spricht wohl gegen eine bevorzugte „Stammhirnwirkung" des Luminals.

Besonders different verhielten sich die Analgetica. So beeinflußten Morphin und Polamidon die Blutdruckkurven auf Temperaturveränderung überhaupt nicht, das analgetisch schwächere Dolantin (Schaumann) verhinderte dagegen die Erhöhung schon in verhältnismäßig kleinen Dosen. Eine nur mäßige Abschwächung bewirkten Cliradon und Dromoran. Auffallend stark hemmten die Pyrazolone und zwar schon in Dosen, welche die Körpertemperatur am Normaltier noch nicht beeinflussen. Salicylat übte dagegen selbst in 10fach größerer Dosis als die Pyrazolone höchstens eine schwache Hemmwirkung aus. Die analgetische Wirkungsstärke und die Beeinflussung der Blutdruckreaktion gehen also keineswegs parallel. Auch zur antipyretischen Wirkung dieser Substanzen ergibt sich keine klare Beziehung, denn auch bei der Blutdruckreaktion unwirksame Substanzen wie Morphin und Polamidon wirken stark temperatursenkend.

Die Wirkungen der vegetativen Pharmaka fügen sich gut in die Auffassung ein, daß die beobachteten Blutdruckerhöhungen durch Adrenalinausschüttung bedingt sind. So unterdrückten Adrenolytica (Dibenamin und Regitin) sowohl den hypothermischen wie den hyperthermischen Blutdruckanstieg.

Der Befund, daß Ergotamin nur bei der Unterkühlung wirksam war, bedarf weiterer Klärung. Die paradoxe Dauererhöhung des Blutdrucks bei Überwärmung könnte zum Teil mit der blutdrucksteigernden Eigenwirkung des Ergotamins zusammenhängen, die an der Ratte ausgeprägt zu sein scheint; vielleicht sind an ihr auch zentrale Angriffspunkte beteiligt, wie sie von Rothlin hervorgehoben werden.

Auch bei den Phenothiazinabkömmlingen stimmt das Ausmaß der Hemmwirkung mit dem von Weese angegebenen Schema über ihre adrenolytische Wirksamkeit gut überein. Bei diesen Substanzen, vor allem bei der völligen Regulationsstarre unter Megaphen, dürften dazu ihre zentralen Wirkungen eine wichtige Rolle spielen.

Wie zu erwarten, waren Ganglienblocker wie Pendiomid und Penthonium ohne Wirkung auf die Reaktionsabläufe des Blutdrucks. Wenn Novocainamid die Reaktionen unterdrückte, so möchten wir dies weitgehend seinen zentralen Angriffspunkten zuschreiben. Auffallend ist die starke Hemmung durch Spartein. Wahrscheinlich ist diese durch eine Blockierung des Nebennierenmarkes verursacht, das gegen Spartein besonders empfindlich ist (Malorny).

Zusammenfassung.

1. An Ratte, Meerschweinchen und Goldhamster wurden die Reaktionen des Blutdrucks auf rasche Auskühlung und Erwärmung und deren Beeinflußbarkeit untersucht.

2. Die Blutdrucksteigerung bei Auskühlung und bei Überwärmung ist eine zentral bedingte Notfallfunktion.

3. Die gefundenen Blutdruckbewegungen wurden unterdrückt

a) durch zentrale Hemmung: *völlig* von Narkotica (tiefste Narkose), Dolantin, Pyrazolonen, Megaphen und Novocainamid; *teilweise* von den Antihistaminica der Phenothiazinreihe, Dromoran und Cliradon.

b) durch periphere Hemmung: von allen Adrenolytica, darunter auch Megaphen und Spartein.

c) durch Blockade des Nebennierenmarkes: von Spartein.

4. Ohne Hemmwirkung waren Morphin, Ganglienblocker und Parasympathicolytica.

5. Zwischen Hemmwirkung auf die untersuchten Blutdruckreaktionen, analgetischer und antipyretischer Wirkungsstärke lassen sich keine deutlichen Beziehungen feststellen, vielmehr scheinen die Angriffspunkte der verschiedenen zentral wirksamen Pharmaka bezüglich der Hemmung der Notfallfunktion sehr different zu sein.

Literatur.

Barcroft, J.: Die Atmungsfunktion des Blutes II. Berlin: Springer 1929. — Cl. Bernard: zit. bei Geiger. — Geiger, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **121**, 67 (1926). — Grosse-Brockhoff, F., u. W. Schoedel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 417 (1943). — Lutz, W., u. R. von Werz: Münch. med. Wschr. **1951**, 161. — Malorny, G., u. F. K. Ohnsorg: Med. Ges. Kiel 1953. — Malorny, G.: Anaesthesist **3**, 176 (1954). — Marquardt, P., u. Hh. Schumacher: Arzneimittel-Forsch. **4**, 223 (1954). — Rothlin, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **171**, 555 (1933). — Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 48 (1952). — Tornade, A., J. Malméjac et F. Jourdan: C. r. Soc. Biol. Paris **101**, 5 (1929). — Trendelenburg, P.: Die Hormone I. Berlin: Springer 1929. — Weese, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 15 (1954). — Werz, R. v.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **202**, 561 (1943). — Winternitz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **33**, 286 (1894). — Zbyszewski, L.: C. r. Soc. Biol. Paris **99**, 1040 (1928).

Dr. H. Breuninger, Pharmakologisches Institut Tübingen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 260—268 (1955).

Aus der Deutschen Akademie der Wissenschaften Berlin, Institut für Medizin und Biologie Berlin-Buch (Direktor: Professor W. Friedrich.) und der II. Med. Klinik der Charité Universitätskliniken Berlin (Direktor: Professor Dr. A. Krautwald).

Die Wirkung des 1-Isopropyl-5-methyl-azulens auf Stoffwechsel, Wachstum und Metastasierung des Mäuseascitescarcinoms.

Von

H. Barton, W. Krischke, F. Jung und A. Graffi.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. November 1954.)

In einer vorhergehenden Mitteilung über die Beeinflussung der Cancerogenese durch 1-Isopropyl-5-methyl-azulen (A 18) fanden wir morphologisch-histologisch für die beobachteten Hemmeffekte keine Erklärung. In den folgenden Untersuchungen prüften wir die Wirkung des A 18 auf die Atmung und Glykolyse des Ascitestumors. Die Ergebnisse gaben Anlaß für weitere Tierexperimente.

Methodik.

Messung der Atmung und Glykolyse am Warburg-Gerät mittels der indirekten Methode. Temperaturkonstanz $\pm$ 0,01° C. Gasraum: Sättigung mit $O_2 + 5\%$ CO_2' bzw. $N_2 + 5\%$ CO_2. VF. der Kastengefäße 7 u. 3 ml. Im Hauptraum befanden sich gleiche Zellkonzentrationen. Im Anhang 0,35 und 0,15 ml gleicher Azulenserumkonzentration. Das A 18 wurde in 10%iger Serum-NaCl-Lösung emulgiert, Benzpyren und Naphthalin in Paraffinöl gelöst und in der gleichen Weise emulgiert. Zellsuspensionslösung: Bicarbonat-Ringer. Bei Messungen in Serum wurde die CO_2 und Milchsäureretention direkt nach Warburg, Kubowitz und Christian bestimmt. Die Messungen erfolgten unter Berücksichtigung der Befunde von H. Druckrey (1939) in 10 min Abständen. Entnahme des Ascites nach Tötung des Tieres am 12. Tage nach Ansatz. Anschließend erfolgte vorsichtiges Zentrifugieren und Waschen der Zellen zweimal in 0,9%iger NaCl- und einmal in Ringer-Lösung bei einer Tourenzahl von etwa 300—400 U/min. Der fertigen Suspensions-Ringer-Lösung wurde Glucose 200 mg %ig zugesetzt. Bei Messungen an Gewebsschnitten wurden Schnittdicken von 0,2—0,3 mm eingehalten. Für die Messungen an Blutzellen wurde menschliches Blut durch vorsichtiges Rühren mit einem Holzstab defibriniert. Exsudatleukocyten wurden nach der Methode von J. de Haan gewonnen. Tierexperimente: Gruppe I: Subcutane sterile Überimpfung des Ascitestumors an weißen Mäusen. Nach drei Tagen wurden 14 Tage lang zweimal tgl. 0,1 mg Azulen in jeweils 0,5 ml 10%iger Serum-NaCl-Emulsion auf der Gegenseite s. c. injiziert. Gruppe II: Ansatz wie unter I. Nach 3 Wochen operative Entfernung des soliden

Tumorgewebes und Schluß der Hautwunde durch Naht. Anschließend erfolgte Azulen-injektion wie unter I. Gruppe III: Durch Injektion von jeweils 1,5 Millionen Tumorzellen in 0,2 ml NaCl in die Schwanzvene weißer Mäuse wurden Metastasen in den Körper- und Lungenkreislauf gesetzt. 6—8 Std später erfolgte i.v. Injektion verschiedener Azulenserumkonzentrationen einmal tgl. Als Blutmenge der Maus wurden 2 ml angenommen, die Azulenkonzentration auf 2,5 ml Blut berechnet. Nach 3 Wochen wurden die Versuchstiere getötet und die Metastasen der einzelnen Organe bei Lupenvergrößerung ausgezählt. Gruppe IV: Intraperitoneale Implantation von 0,2 ml Ascitestumorzellen in einer Verdünnung 1 : 5. Nach 48 Std Injektion eines einmaligen intraperitonealen Azulendepots von 20 mg/Tier in Ol. oli-

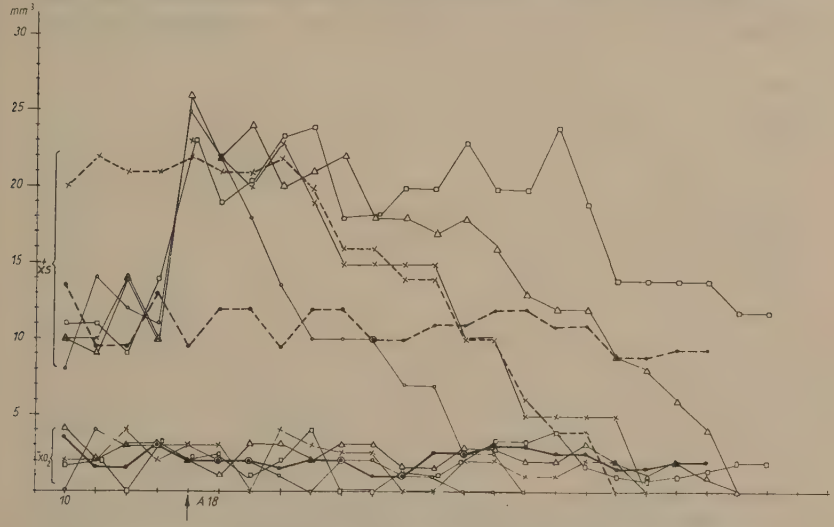


Abb. 1. Stoffwechsel von 7 ml Tumorzellsuspension. Zellkonzentr.: etwa 1200/mm³. Ordinate: mm³ CO_2-Freisetzung (× S) u. O_2-Verbrauch. Abszisse: Abstände in 10 min Messungen. •——•, •— —• Kontr. o——oA 18 1×10^{-3}. ×——× A 18 1×10^{-4}. △——△ A 18 5×10^{-5}. □——□ A 18 1×10^{-5}. ×— —× A 18 1×10^{-4} anaerobe Glykolyse. Nach Azulen erfolgt ein Anstieg der aeroben Glykolyse auf den anaeroben Wert und zeitlich verschieden je nach Azulenkonzentration ein Abfall bis zur völligen Stoffwechselhemmung, während die Atmung als nicht beeinflußt erscheint.

varum. In einem weiteren Versuchsansatz wurden 48 Std später dreimal täglich 1 und 2 mg A 18 in 0,5 ml Serum-NaCl 10 Tage intraperitoneal injiziert. In den Stoffwechsel- sowie Tierversuchen wurden den Kontrollansätzen gegenüber den Versuchsansätzen Paraffinöl in entsprechenden Konzentrationen emulgiert zugeführt.

Ergebnisse.

Die Wirkung des Azulens auf den Stoffwechsel des Ascitestumors ist zweiphasisch. Nach Einkippen von Azulenmengen $1 \cdot 10^{-3}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ g/ml Endkonzentration im Hauptraum erfolgt eine Steigerung der aeroben Glykolyse auf das Zweifache der Ausgangswerte. Sie erreicht damit den anaeroben Wert. Je nach Azulenkonzentration erfolgt im Anschluß an den Glykolyseanstieg ein zeitlich verschiedener Abfall bis zum völligen Stoffwechselstillstand. Die Atmung dagegen bleibt nach unseren

Beobachtungen über längere Zeit hin unbeeinflußt. Wegen der an sich geringen Atmung und der plötzlichen Säurebildung nach Azulen und der damit verbundenen hohen positiven Manometerdrucke ist jedoch eine sichere Aussage über die Atmung in der von uns gewählten Versuchsanordnung nicht möglich. Ein Anstieg der anaeroben Glykolyse erfolgt nicht. Ihr Abfall dagegen erfolgt temporär und quantitativ der entsprechenden aeroben parallel. Der zeitliche Ablauf der Stoffwechselvorgänge in Abhängigkeit von der Azulenkonzentration geht aus Abb. 1 hervor.

Im Vergleich zum A 18 wurden die Kohlenwasserstoffe Naphthalin und Benzpyren in Serum-Ölsuspensionen auf ihre Stoffwechselwirkung

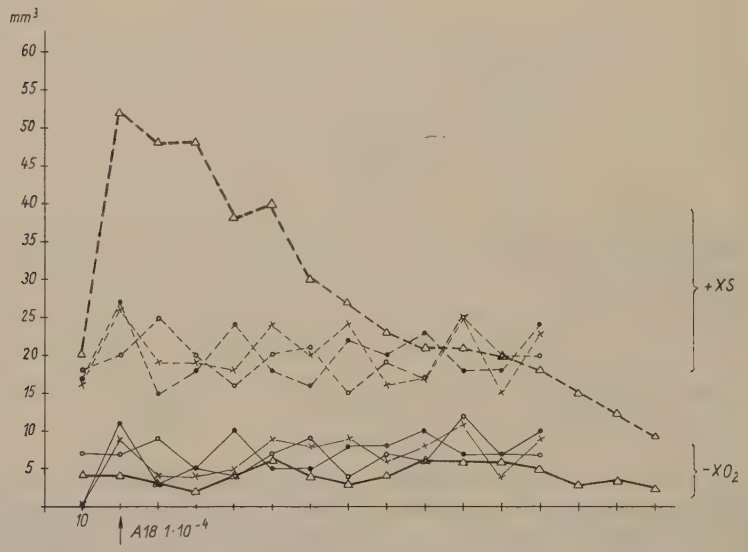


Abb. 2. Stoffwechsel von 7 ml. Tumorzellsuspension. Zellkonzentr.: etwa 2000/mm³. Ordinate: mm³ O_2-Verbrauch und CO_2-Freisetzung. Abszisse: Messung in 10 min-Abständen. •——• Kontr.- o——o Naphthalin. ×——× Benzpyren △——△, △— —△ A 18 1×10^{-4}. Naphthalin und Benzpyren beeinflussen den Stoffwechsel der Ascitestumorzellen nicht. Auf A 18 erfolgt ein Anstieg der aeroben Glykolyse mit anschließender Hemmung.

am Ascitestumor geprüft. Eine Änderung der Atmungs- und Glykolysewerte tritt nicht auf: Abb. 2. Einer weiteren Klärung bedurfte die Frage nach einer Wirksamkeit des Azulens auf andere Gewebszellen. Wir untersuchten daher den Einfluß des A 18 auf den Stoffwechsel des menschlichen defibrinierten Blutes, von den Erythrocyten getrennter Leukocyten, von Kaninchen-Exsudatleukocyten, von Leber- und Nierenschnitten und auf den Stoffwechsel undifferenzierter normaler Knochenmarkszellen des Hundes. In keinem Fall trat nach Azulen eine Änderung der Stoffwechselwerte für den O_2-Verbrauch und die CO_2-Freisetzung auf (vgl. Abb. 3 und 4). Zum Ausschluß einer Unwirksamkeit des Azulens

auf Leber- und Nierenschnitte infolge seiner physikalischen Lösungsverhältnisse — das Azulen liegt in unseren Versuchsanordnungen als Öl-Serumemulsion vor — wurden die Versuche durch Stoffwechselmessungen an Schnitten des soliden i. m. überimpften Ascitestumors ergänzt. Die Ergebnisse waren die gleichen wie an den freischwimmenden Zellen. Sie sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

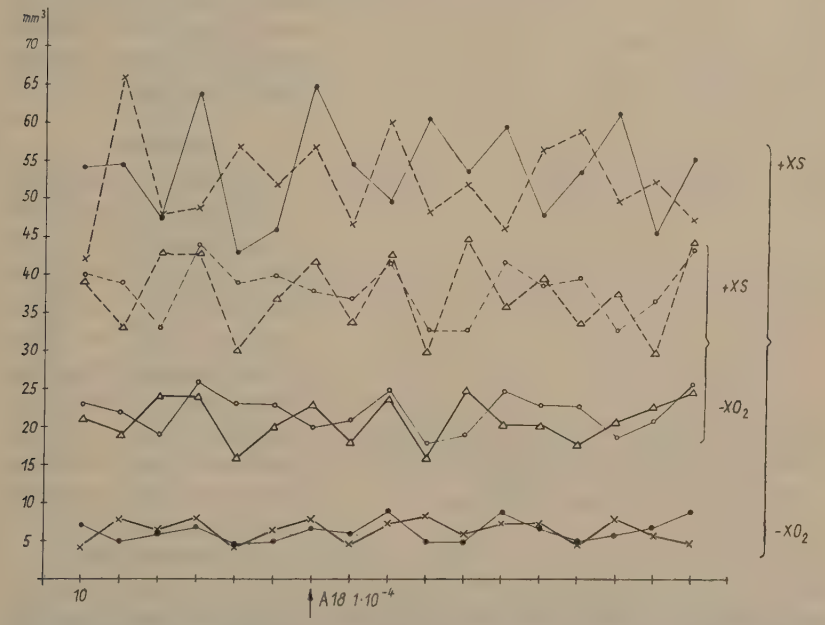


Abb. 3. Stoffwechsel von 7 ml defibrinierten menschl. Blut. Konzentr.: Leuco: etwa 5000/mm³. Ery: 4 Mill. u. 7 ml Knochenmarkzellen vom Hund, Konzentr. unreifer Zellen etwa 7000/mm³. Ordinate: mm³ O_2-Verbrauch. CO_2-Freisetzung. Abszisse: Messungen in 10 min-Abständen •——• Kontr.-Blut ×——× Azulenblut o——o Kontr.-Mark △——△ Azulenmark. Nach Azulen 1×10^{-4} g/ml erfolgt keine Änderung des Stoffwechsels.

Die Stoffwechselergebnisse führten zu der Überlegung, daß eine Zelle, die nach Einwirkung einer bestimmten Azulenkonzentration keine Zeichen eines Stoffwechsels zeigt, nicht mehr teilungsfähig sein dürfte. Wenn

Tabelle 1.

	Leber				Niere				sol. Tumor			
	A 18 1×10^{-4} g/ml		Kontr.		A 18 1×10^{-4} g/ml		Kontr.		A 18 1×10^{-4} g/ml		Kontr.	
	QO_2	QCO_2	QO_2	QCO_2	QO_2	QCO_2	QO_2	QCO_2	QO_2	QCO_2	QO_2	QCO_2
Vor A 18	— 9,4	+ 9,3	— 10,3	+ 10,3	— 20,8	+ 19,5	— 21,4	+ 19,7	— 1,6	+ 10,1	— 2	+ 9,8
Nach A 18	— 12,8	+ 12,6	— 13,4	+ 13,5	— 20,4	+ 19,2	— 19,9	+ 19,1	— 2,5	+ 17,7	— 2,5	+ 10,7
									— 1,1	+ 12,8	— 1,1	+ 8,5

es gelänge, im Organismus für eine bestimmte Zeit die Azulenkonzentration zu erreichen, welche die Ascitestumorzellen in ihrem Stoffwechsel ausreichend schädigt, die übrigen Körperzellen dagegen nicht beeinflußt, dann müßte die Tumorzelle zugrunde gehen. Da uns nichts über Ausscheidung, Abbaubedingungen und folglich Gewebskonzentration des Azulens im Organismus bekannt war, mußten wir uns in unseren Tierversuchen an die wirksame Dosis herantasten.

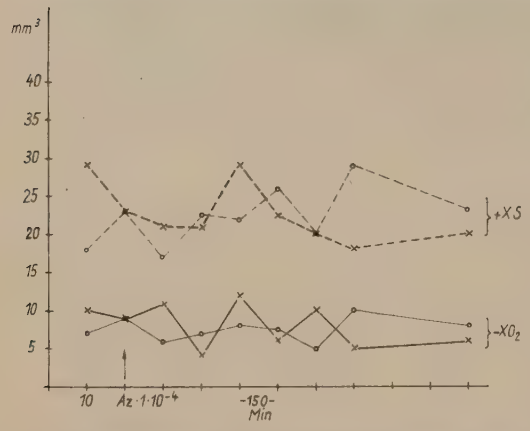


Abb. 4. Stoffwechsel von 7 mm³ isolierter u. gewaschener menschlicher Leukocyten. Zellkonz. etwa 6000/mm³. Ordinate: mm³ O_2-Verbrauch und CO_2-Freisetzung. Abszisse: Stoffwechselmessungen in 10 min-Abständen. o——o Kontr. ×——× A 18 1×10^{-4} g/ml. Auf Azulen 1×10^{-4} g/ml erfolgt keine Änderung des Stoffwechsels.

Ergebnisse.

G 1. 30 weißen Mäusen wurden 0,2 ml einer Tumorzellsuspension 1 : 5 subcutan unter die Rückenhaut injiziert. 15 Tiere erhielten nach 3 Tagen 14 Tage lang zweimal täglich 0,1 mg A 18 subcutan appliziert. Eine Wachstumshemmung wurde gegenüber den Kontrolltieren nicht beobachtet.

G 2. Ansatz wie unter G 1. Nach 14 Tagen erfolgte Freipräparation der Subcutis und operative Entfernung des Ascitestumors. Die Haut wurde durch Naht über dem Wundgebiet geschlossen. Anschließend erfolgte Nachbehandlung wie unter G 1. Eine Recidivfreiheit gegenüber den Kontrolltieren konnte auch in dem reaktiv entzündlichen Wundgebiet nicht erzielt werden. Organmetastasen traten bei den Versuchs- und Kontrolltieren nicht auf.

G 3. Durch i.v. Injektion von 1,5 Millionen Tumorzellen/Maus wurden Metastasen in den großen und kleinen Kreislauf gesetzt. Die Ergebnisse gehen aus nachstehender Tabelle hervor.

In den Versuchen Nr. 1 und 3 wurden die 1,5 Millionen Tumorzellen mit der jeweils zu injizierenden Serum-Azulenkonzentration in der Spritze gemischt und sofort danach i.v. injiziert. Signifikante Hemmungen der Metastasierung traten nur im Versuch 1 und 2 auf, also nur bei relativ hohen Azulenkonzentrationen. Im Versuch Nr. 2 betrug nach der zweiten Injektion die Mortalität 60%. Die Tiere starben sofort nach der Injektion an zentralen Krämpfen.

G 4a. 30 weißen Mäusen wurde einmal je 0,2 ml einer Ascitestumorzellen-Suspension 1 : 5 i. p. injiziert. Nach 48 Std erfolgte einmalige i. p.

Injektion eines Azulendepots von 20 mg/Tier. Unterschiede in der Zellzahl und Ascitesmenge zwischen Kontroll- und Versuchstieren konnten nicht festgestellt werden. Nach Eröffnung der Bauchhöhle am 12. Tag wurde der Azulentropfen vergrünt auf dem Ascites vorgefunden.

Tabelle 2.

Vers.-Nr.	Berechnete Az. Enz. Konz./1 ml Blut nach i. v. Injekt.	i. v. inj. Zellz.-Mill.	Auswertbare Tierz.	Metastasen		
				Tier	Lunge	Krslf.
A 18 1	5mal $2{,}4 \cdot 10^{-4}$ g/ml	1,5	19	0,36	0,36	0
Kontr.	5mal Ser.-NaCl	1,5	20	10,9	9,75	1,1
A 18 2	2mal 5mal 10^{-3} g/ml	1,5	25	0	0	0
Kontr.	2mal Ser.-NaCl	1,5	27	48	47,5	0,5
A 18 3	6mal $5 \cdot 10^{-5}$ g/ml	1,5	16	3,3	2,7	0,7
Kontr.	6mal Ser.-NaCl	1,5	25	2,95	1,95	1,0
A 18 4	6mal $1 \cdot 10^{-3}$ g/ml	1,5	27	16,6	9,3	7,2
Kontr.	6mal Ser.-NaCl	1,5	18	12,1	8,5	3,5

G 4b. Ansatz von 50 Tieren wie unter 4a. Nach 48 Std wurde 28 Tieren dreimal täglich je 1 mg Azulen als Serumemulsion i. p. injiziert. 5 Tage nach Ansatz wurde die Dosis auf dreimal 2 mg täglich gesteigert. Das Ergebnis geht aus Abb. 5 hervor. Danach ist die Gesamtzellzahl/mm³ bei den Versuchstieren signifikant gehemmt. Nach Ausdifferenzierung wird der Unterschied innerhalb der Tumorzellen noch deutlicher, während die histiocytären Elemente, histiocytäre Speicherzellen, Makrophagen und Monocyten nicht beeinflußt werden. Bei keiner Versuchsanordnung werden makroskopische Veränderungen an den übrigen Organen nach Azulenapplikationen festgestellt.

Diskussion.

Vorausgesetzt, daß wir berechtigt sind, von unseren Stoffwechselergebnissen in vitro auf die Befunde in vivo zu schließen, gelingt es grundsätzlich die für die Ascitestumorzelle stoffwechselhemmende Azulenkonzentration im Organismus bei Überleben des Versuchstieres zu erreichen. Um eine wirksame Blutazulenkonzentration für die notwendige Zeitdauer zu erzielen, ist bei der technischen Schwierigkeit einer häufigeren i.v. Injektion in die Schwanzvenen offenbar eine relativ hohe

Einzeldosis notwendig, welche bereits toxisch wirkt. Inwieweit bei den höheren Konzentrationen der Tod durch zentrale Fettembolien hervorgerufen wurde, haben wir nicht untersucht. In unseren Tierversuchen gingen wir von der Vorstellung aus, daß der Stoffwechseltod der Tumorzelle auch mit dem morphologischen Zelltod verbunden sein müßte, obwohl Brock, Druckrey u. Herken warnen, von einer im Stoffwechselversuch ermittelten schädigenden Wirksamkeit eines Stoffes auf die Zelle auch auf die Schädigung der Zellteilung zu schließen. Inwieweit deshalb schon die erste Phase, der Anstieg der aeroben Glykolyse eine Schädigung der Zelle bedeutet und nach den Arbeiten dieser Autoren (1938 u. 1939) als Stoffwechsel des geschädigten Gewebes zu deuten wäre, muß noch offen bleiben. Eine Steigerung der Atmung konnten wir allerdings nie beobachten. Auffällig bleibt in jedem Falle die fehlende Stoffwechselwirkung des A 18 auf die übrigen untersuchten Gewebsarten.

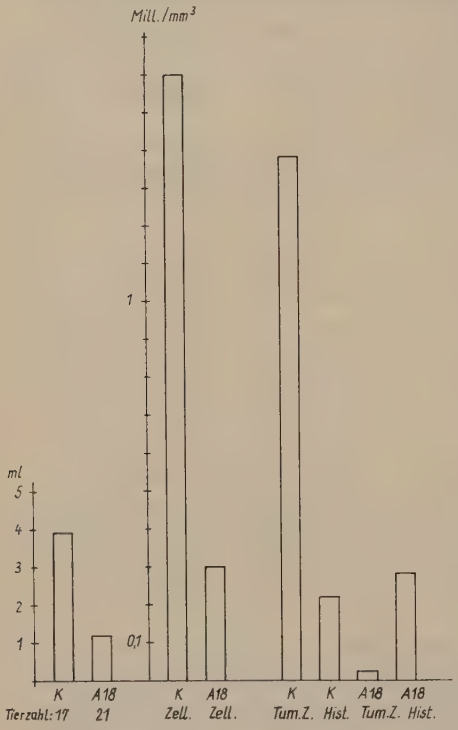


Abb. 5. Ordinate: Li.: ml Ascitesflüssigkeit. Mitte: Gesamtzellzahl in Millionen/mm³. Re. außen Mill./mm³. Zellen ausdifferenziert in Tumorzellen u. histiocytäre Elemente. Die Säulen bezeichnen Mittelwerte. Nach intraperitonealer Injektion von 3 × tgl. 1—2 mg A 18 ist die Zellzahl der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren signifikant gehemmt. Der Unterschied wird nach Ausdifferenzierung noch deutlicher.

Eindrucksvolle Hemmungen traten offensichtlich nur dann auf, wenn das A 18 auf direktem Wege an die Tumorzelle herangebracht werden konnte. Die subcutanen Injektionen waren entweder nicht ausreichend hoch oder das Azulen gelangt auf diesem Wege nicht mehr in der wirksamen Verbindung an die Zellen.

Zusammenfassung.

1. Stoffwechselmessungen an Ascitestumorzellen und an Gewebsschnitten des soliden Ascitestumors zeigen nach Azulen $1 \cdot 10^{-3}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ g/ml einen Anstieg der aeroben Glykolyse auf den anaeroben Wert mit anschließendem Abfall auf 0. Die zeitliche Dauer des Abfalls ist konzentrationsbedingt. Die Atmung erscheint nicht gehemmt.

2. Die anaerobe Glykolyse wird nicht gesteigert, aber gleichlaufend mit der aeroben Glykolyse gehemmt.

3. Naphthalin und Benzpyren verändern den Stoffwechsel des Ascitestumors in der von uns gewählten Versuchsanordnung nicht.

Tabelle 3. *Protokoll.*

Tumorzellen: etwa 2000/mm³ KO_2 = 0,858 Divisor O_2 = — 0,321
Temperatur: 37° C KCO_2 = 1,237 Divisor CO_2 = + 0,198
Gasraum: O_2 + 5% CO_2 kO_2 = 1,343
Suspens.Lös.: Bicarbonat-RINGER kCO_2 = 1,506

T. Min.	Thermo 5 ml	VF = 7 ml A 18 Endkonz. 1×10^{-4} g/ml Anhang: 0,35 ml		vf = 3 ml A 18 Endkonz. 1×10^{-4} g/ml Anhang: 0,15 ml		7,35 3,15
	+ 7	— 84		— 26		
10	+ 7	— 70	+ 14	— 20,5	+ 5,5	+ 13,0
10	+ 8	— 56,5	+ 13,5	— 14,5	+ 6	+ 12,0
	— 1		+ 12,5		+ 5	
10	+ 8	— 44,5	+ 12,0	— 9,5	+ 5	+ 12,0
10	+ 8,5	— 31	+ 13,5	— 4,0	+ 5,5	+ 12,0
	— 0,5		+ 13,0		+ 5,0	
10	+ 8,5	— 19	+ 12	+ 1	+ 5,0	+ 12,0
10	+ 9,5	— 4	+ 15	+ 7,5	+ 6,5	+ 13,0
	— 1		+ 14		+ 5,5	
10	+ 10	— 126	nach A 18	— 28	nach A 18	
10	+ 10	— 86	+ 40	— 13	+ 15	+ 35,0
10	+ 11	— 42	+ 44	+ 4	+ 17	+ 37,0
	— 1		+ 43		+ 16	
10	+ 11	+ 0	+ 42	+ 19,0	+ 15	+ 35,0
10	+ 12		+ 32		+ 12,5	
	— 1	+ 32	+ 31	+ 31,5	+ 11,5	+ 27,0
10	+ 12	+ 65	+ 33	+ 43,5	+ 12	+ 28,0
10	+ 13	+ 87	+ 22	+ 52,5	+ 9	
	— 1		+ 21		+ 8	+ 19,0

4. Nieren- und Lebergewebe, normale Blutzellen der Peripherie, Exsudatleukocyten und die undifferenzierten Zellen des normalen Knochenmarks werden in ihrem Stoffwechsel durch A 18 nicht beeinflußt.

5. In Tierversuchen werden Hemmwirkungen durch relativ hohe Azulenkonzentrationen auf die Metastasierung nach i.v. Injektion der Tumorzellen und auf das Wachstum i. p. überimpfter Ascitestumorzellen beobachtet.

6. Das Wachstum subcutan injizierter Ascitestumorzellen wurde durch subcutane Applikation von Azulen in den angewandten Konzentrationen nicht gehemmt.

Literatur.

Barton, H., U. Heine, A. Graffi, F. Jung: Versuche zur Beeinflussung der Cancerogenese durch 1-Isopropyl-5-methyl-azulen. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 443 (1954). — Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes. II. u. der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes III. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188** (1938). — Der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes IV. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193** (1939). — Druckrey, H.: Der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 231 (1936). — Zur Methode der Messung des Gewebsstoffwechsels. Arch. exper. Zellforsch. **22** (1939). — De Haan, J.: zitiert von H. J. Hamburger: Die Technik des Arbeitens mit Phagocyten zu biologischen Zwecken. Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden. Abderhalden IV, 4, 953. — Krebs, H. A.: Methode der manometrischen Messung von Atmung u. Gärung aus: Die Methodik der Fermente von Carl Oppenheimer u. Ludwig Pincussen, Berlin 1929. Leipzig: Georg Thieme. — Warburg, O., F. Kubowitz u. W. Christian: Über die Wirkung von Phenylhydrazin und Phenylhydroxylamin auf den Stoffwechsel der roten Blutzellen. Biochem. Z. **242**, 170 (1931).

Dr. med. Helmut Barton, II. Med. Univ. Klinik der Charité, Berlin NW 7, Schumannstr. 21.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 269—278 (1955).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. H. Schaefer).

Über die Wirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin auf die Muskeldurchblutung des Menschen und ihre Beeinflussung durch Regitin.

Von

Klaus Golenhofen, Herbert Hensel und Jürgen Ruef.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. November 1954.)

Die Aufgabe der nachstehend beschriebenen Versuche war es, die Wirkung adrenerger Substanzen — Adrenalin und Nor-Adrenalin — auf die Muskelgefäße des Menschen vor und nach Einwirkung sympathicolytischer* Stoffe zu untersuchen. Tierexperimente sind gerade auf diesem Gebiet nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar. So sind die Angaben über die Wirkung kleiner Adrenalindosen auf die Muskeldurchblutung von Hund und Katze recht widerspruchsvoll.

Es werden Constrictionen, Dilatationen und mehrphasische Reaktionen der Muskelgefäße beschrieben[1, 2, 11, 28, 30, 35] (weitere Literatur bei Dörner[15, 16]), während beim Menschen Adrenalin in kleinen Dosen regelmäßig die Muskelgefäße erweitert (Grant u. Pearson; Allen, Barcroft u. Edholm; Barcroft u. Swan; Barcroft, Hensel u. Kitchin; Hensel, Ruef u. Golenhofen u. a.). Auch die Beeinflussung der Wirkung auf die Muskelgefäße durch Sympathicolytica ist bisher im Tierversuch nicht eindeutig geklärt. Lanier u. Mitarb. sahen am Hund bei kleinen Regitindosen eine Umkehr der constrictorischen Adrenalinwirkung auf die Muskelgefäße in eine rein dilatatorische und bei höheren Dosen eine Dämpfung dieser dilatatorischen Wirkung, während Gross, Tripod u. Meier bei der Katze beobachteten, daß die durch kleine Adrenalindosen ausgelöste Mehrdurchblutung der A. femoralis nicht beeinflußt wird. Hier war allerdings Haut- und Muskeldurchblutung nicht differenziert.

Aus methodischen Gründen war bisher die getrennte Untersuchung der Muskeldurchblutung am Menschen nicht möglich. Die „Clearance" eines i.m. injizierten Radioisotopes (Kety; Eichler, Linder u. Schmeiser u. a.) erscheint dafür nicht geeignet, da Walder in vergleichenden plethysmographischen Untersuchungen fand, daß die Na^{24}-Clearance im M. gastrocnemius des Menschen durch Adrenalin

* In der anglo-amerikanischen Literatur werden diese Stoffe heute auch als „adrenergic blocking agents" bezeichnet. Kritik der Begriffe „Sympathicolytica" und „Adrenolytica" bei Nickerson.

nicht verändert wurde, während gleichzeitig im anderen Bein der Verschluß-Plethysmograph eine Verdoppelung der Unterschenkeldurchblutung anzeigte. Ebenso bleibt es zweifelhaft, wie weit sich aus der Durchleuchtung muskelhaltiger Extremitätenteile (Dittmar, Mechelke u. Nusser) Rückschlüsse auf das Stromzeitvolumen der Muskeldurchblutung ziehen lassen. Die Methode mißt nur Volumina, aber keine Zeitvolumina, und liefert außerdem einen Summenwert aus Haut und Muskel. Mit der venösen Verschlußplethysmographie läßt sich die Adrenalinwirkung auf die menschliche Muskeldurchblutung zwar gut nachweisen; wenn aber durch das Sympathicolyticum gleichzeitig die Hautdurchblutung erheblich zunimmt, so wird in diesem Fall die Beurteilung der Muskeldurchblutung erschwert. Ähnliche Schwierigkeiten ergeben sich bei der Untersuchung der Nor-Adrenalinwirkung, da diese Substanz sowohl die Haut- als auch die Muskelgefäße verengern kann, so daß plethysmographisch keine eindeutige Differenzierung beider Gefäßgebiete möglich ist.

Für unsere Untersuchungen wurden daher neue Methoden verwendet, die eine *fortlaufende, getrennte Registrierung der Muskel- und Hautdurchblutung am Menschen* ermöglichen.

Unter den Sympathicolytica schien uns das 2-(N-p'-Tolyl-N-m-oxyphenyl-aminomethyl)-imidazolin (Regitin*) am geeignetsten zu sein, da es ohne unangenehme Nebenerscheinungen am Menschen eine deutliche Wirkung hervorruft (Bernsmeier).

Seine Wirkung im Tierexperiment ist in der Arbeit von Gross, Tripod u. Meier dargestellt. Bernsmeier u. Mitarb.[9, 10] und Heinzel, Matthes, Mechelke u. Nusser untersuchten die Beeinflussung der Adrenalin- und Nor-Adrenalin-Blutdruckwirkung am Menschen eingehend. Die Wirkung auf die Hautdurchblutung des Menschen wurde thermometrisch untersucht von Kühns[31, 32], eine differenzierte Untersuchung der Muskel- und Hautdurchblutung des Menschen wurde durchgeführt von Hensel, Ruef u. Golenhofen.

In orientierenden Versuchen sahen wir, daß nach 20 mg Regitin i.v. die Adrenalin-Dilatation der Muskelgefäße nicht beeinflußt wurde, während die Constriction nach Nor-Adrenalin deutlich gedämpft wurde (Golenhofen). Zur genaueren Untersuchung dieses Unterschiedes wurden in der vorliegenden Arbeit weitere Versuche durchgeführt, bei denen auch die Regitindosis noch erhöht wurde.

Methodik.

Die Versuche wurden an gesunden männlichen Studenten im Alter von 18 bis 25 Jahren ausgeführt. Die Vp. lag bequem auf einem Ruhebett bei Raumtemperaturen zwischen 20 und 23° C. Die Durchblutung der Wadenmuskulatur wurde mittels einer in den M. gastrocnemius eingeführten *Calorimetersonde* fortlaufend registriert. Es handelt sich hierbei um eine Messung der lokalen Wärmeleitzahl des Muskels, die sich mit dem Stromzeitvolumen der Muskeldurchblutung (konvektiver Wärmetransport) ändert, während sie vom wechselnden Blutvolumen unabhängig ist

* Der Herstellerfirma: Ciba A. G., Wehr/Baden, danken wir für die Überlassung von Versuchsmengen.

(Hensel u. Bock). Gleichzeitig wurde mit einem *Strömungscalorimeter** (Hensel[24]) der Wärmestrom an der Fußsohle aufgezeichnet, der ein qualitatives Maß für die Hautdurchblutung darstellt. Bezüglich der Meßmethodik mit der Calorimetersonde verweisen wir auf die Arbeiten von Hensel u. Ruef sowie Hensel, Ruef u. Golenhofen. Mit einem Dauerinfusionsgerät wurde physiologische Kochsalzlösung infundiert. Über einen Dreiwegehahn wurden die Pharmaka injiziert. Adrenalin und Nor-Adrenalin wurden zunächst vor Regitin gegeben, darauf wurden 20 mg Regitin i.v. injiziert und die Adrenalin- und Nor-Adrenalin-Injektion wiederholt. In 4 Versuchen wurde die Regitindosis danach verdoppelt, in einem Versuch verdreifacht,

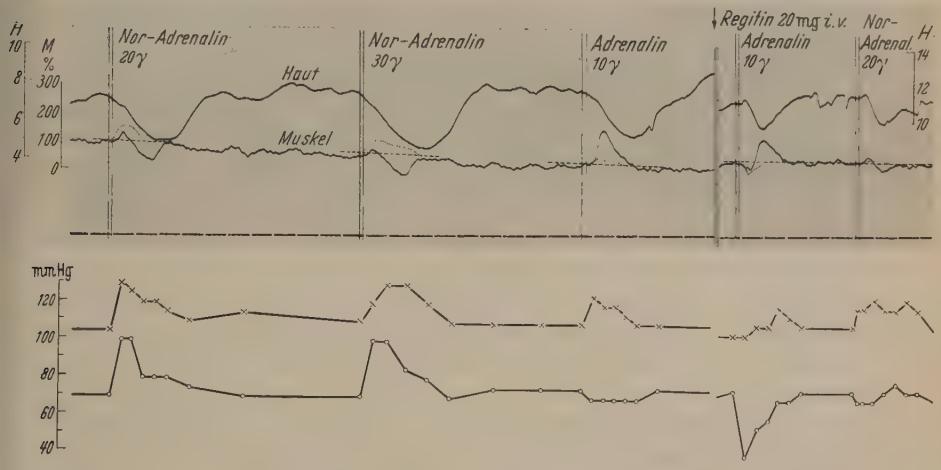


Abb. 1. Beeinflussung der Adrenalin- und Nor-Adrenalinwirkung auf Haut- und Muskeldurchblutung und Blutdruck durch Regitin 20 mg i.v. Die zu erwartende druckpassive Muskeldurchblutungsänderung nach Adrenalin und Nor-Adrenalin ist punktiert eingezeichnet. *M* Muskeldurchblutung in Prozent der Ruhedurchblutung; *H* Wärmestrom durch die Haut in 10^{-3} cal · cm^{-2} · sec^{-1}. Systolischer und diastolischer Blutdruck in mm Hg. Zeitschreibung: 1 min.

und darauf wieder die Wirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin untersucht. Da Regitin eine über Stunden anhaltende Wirkung hat, tritt eine Kumulation auf, wenn die zweite Injektion von 20 mg der ersten nach etwa ½ Std folgt, wie es bei unseren Untersuchungen der Fall war.

Ergebnisse.

Insgesamt wurden 14 Versuche durchgeführt. Durch Regitingaben von 20—60 mg wurde der mittlere Blutdruck bei liegender Versuchsperson nur wenig verändert, es trat eine kurzfristige Senkung um 10—20 mm Hg auf, der diastolische Druck fiel meist stärker als der systolische. Nach 10—15 min war die Ausgangslage wieder erreicht. Die Blutdruckwirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin erfährt allerdings durch Regitin eine so

* Hersteller der Calorimetersonde und des Strömungscalorimeters: Hartmann & Braun A. G., Frankfurt/M.

starke Veränderung, daß sie berücksichtigt werden muß, wenn man die Änderungen des peripheren Widerstandes untersuchen will. Abb. 1 zeigt das typische Verhalten des Blutdruckes. Bei 10 γ Adrenalin i.v. bleibt der arterielle Mitteldruck meist unverändert bei größerer Amplitude. Nach Regitin kann allerdings unter steilem Abfall des diastolischen Druckes der Mitteldruck bis auf 50% abfallen. In Abb. 1 ist die zu erwartende druckpassive Änderung der Muskeldurchblutung punktiert eingezeichnet. Die druckpassive Wirkung des Nor-Adrenalins ist erheblich größer, da der diastolische Druck stark ansteigt und der Mitteldruck bei 20—30 γ i.v. um 20—30% erhöht wird. Um die Auswirkungen auf die Vasomotorik besser zu erfassen, wurden die Durchblutungsänderungen alle auf konstanten Blutdruck bezogen, wobei wir mangels genauerer Einblicke ein lineares Verhältnis zwischen Druck und Stromstärke einsetzten. Da die Stromstärke in elastischen Gefäßen in Wirklichkeit eine weit kompliziertere Funktion des Druckes ist (vgl. Wezler u. Schlüter), so ist die Genauigkeit der quantitativen Werte nicht sehr hoch; qualitativ und richtungsmäßig sind die Ergebnisse in jedem Falle eindeutig.

Adrenalin 10 γ i.v. bewirkte in allen Versuchen eine deutliche Mehrdurchblutung der Muskulatur, die quantitativ in recht weitem Bereich schwankte und die Größe der reaktiven Mehrdurchblutung nach 3 min arterieller Drosselung erreichen konnte. Im Mittel stieg die Muskeldurchblutung ungefähr auf das Dreifache des Ruhewertes an. Bei aufeinanderfolgenden Injektionen im Abstand von 10 min oder mehr blieb die Wirkung mit einer Streuung von etwa 10—15% gleich. Nach 20 mg Regitin war die Adrenalin-Mehrdurchblutung häufig etwas kleiner, aber unter Berücksichtigung des abfallenden Druckes im Mittel auf 111% des Wertes vor Regitin erhöht. Nach 40 mg Regitin war die Adrenalin-Dilatation noch mehr verstärkt, auf 147%, und auch nach 60 mg war noch keine Dämpfung der Adrenalinwirkung zu sehen. Der in Abb. 2 dargestellte Versuch zeigte die größte Verstärkung der Adrenalinwirkung; hier war auch die Muskelruhedurchblutung durch Regitin sehr stark erhöht worden, nach 40 mg war sie mehr als verdoppelt. In der Tabelle sind die Adrenalinversuche zusammengestellt.

Nor-Adrenalin führte stets zu einer deutlichen Constriction der Muskelgefäße. Die kurze initiale Mehrdurchblutung ist teilweise druckpassiv zu erklären, eine genaue Entscheidung hierüber könnte aber nur die fortlaufende intraarterielle Druckregistrierung bringen. Die Constriction kann ganz erheblich sein; durch Dosen von 20—30 γ i.v. kann die Ruhedurchblutung um 60—80% vermindert werden. Erhöhung der Dosen von 10 auf 30 γ wirkte sich mehr auf die Dauer als auf die Größe des Ausschlages aus. Nach 20 mg Regitin betrug die Nor-Adrenalin-Constriction im Durchschnitt nur noch 64% des Anfangswertes, nach

weiteren 20 mg nur noch 55%. Bei dem einen Versuch mit 60 mg Regitin war eine Wirkung nicht mehr nachweisbar, auch der Blutdruck wurde nicht verändert. Mehr Versuche wollten wir mit diesen Dosen nicht mehr durchführen, da bei der Versuchsperson eine Stunde nach der Injektion die orthostatische Regelung noch versagte. Auch hier war im Liegen der Blutdruck bei etwas größerer

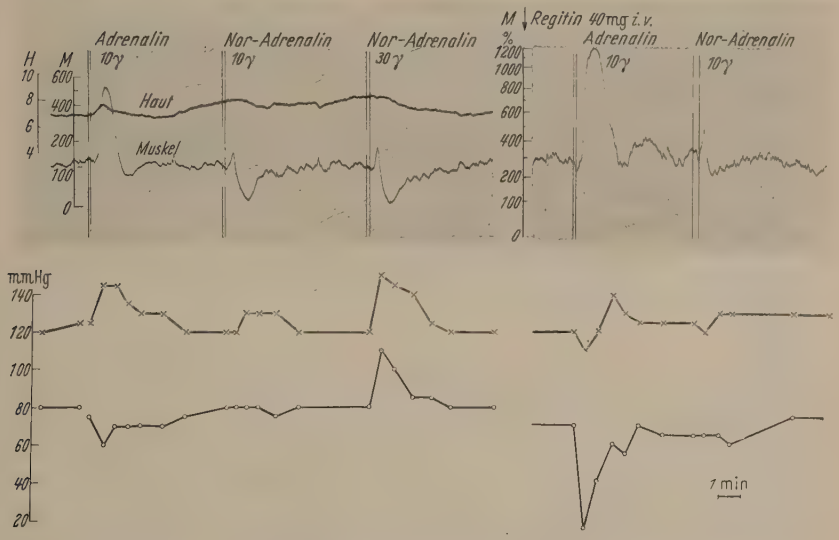


Abb. 2. Beeinflussung der Adrenalin- und Nor-Adrenalinwirkung auf Haut- und Muskeldurchblutung und Blutdruck durch Regitin 40 mg i.v. *M* Muskeldurchblutung in Prozent der Ruhedurchblutung; *H* Wärmestrom durch die Haut in 10^{-3} cal · cm^{-2} · sec^{-1}. Systolischer und diastolischer Blutdruck in mm Hg.

Amplitude auf normaler Höhe. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse bei den einzelnen Versuchen.

Die Wirkung auf die Hautdurchblutung zeigt Abb. 1. Die constrictorische Wirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin wurde durch Regitin in gleichem Maße gehemmt. Dieser Versuch zeigt die Hautwirkung besonders gut, da hier das Regitin vorher nur eine verhältnismäßig geringe Mehrdurchblutung ausgelöst hatte. Bei starker Mehrdurchblutung sind die Wirkungen wesentlich kleiner.

Die subjektive Wirkung der Adrenalin-Injektion wurde durch Regitin deutlich verstärkt, während die an sich schon geringe Wirkung des Nor-Adrenalins gedämpft wurde. Regitin führte zu einer sehr starken Schwellung der Nasenschleimhaut, die mindestens 4—5 Std anhielt; bei 40 mg zeigte sich eine starke konjunktivale Injektion.

Tabelle 1. *Wirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin auf die Muskeldurchblutung vor und nach Regitin.*

A. Adrenalin						B. Nor-Adrenalin					
		Vor Regitin	Nach Regitin i.v.					Vor Regitin	Nach Regitin i.v.		
			20 mg	40 mg	60 mg				20 mg	40 mg	60 mg
Vers.-Nr.	Dosis γ	Dilatation in Prozent d. Ruhedurchblutung	Dilatation in Prozent des Wertes vor Regitin			Vers.-Nr.	Dosis γ	Constriction in Prozent d. Ruhedurchblutung	Constriction in Prozent des Wertes vor Regitin		
45	10	135	74	—	—	64	10	40	58	—	—
46	10	140	100	—	—	65	10	75	61	—	—
50	10	150	130	—	—	67	10	70	45	—	—
61	5	80	113	—	—	95	10	69	56	—	0
64	10	180	78	—	—	99	10	77	57	51	—
65	10	110	125	—	—		20	84	61	64	—
66	5	115	113	—	—		30	87	—	67	—
67	10	80	100	—	—	101	10	50	46	46	—
95	10	345	87	—	119		20	59	60	62	—
99	10	230	87	109	—		30	69	65	45	—
101	10	220	186	191	—	109	10	82	119	59	—
109	10	420	210	233	—		30	90	100	61	—
112	10	155	62	54	—	112	10	20	89	56	—
121	10	125	84	—	—		30	40	52	35	—
						121	20	22	40	—	—
							30	25	53	—	—
Mittelwert:		178	111 ± 11	147	119	Mittelwert:		60	64 ± 6	55 ± 4	0

Besprechung der Ergebnisse.

Die Blutdruckwirkungen des Adrenalins und Nor-Adrenalins am Menschen wurden bereits von verschiedenen Autoren beschrieben; wir verweisen nur auf Matthes sowie Barcroft u. Konzett. Die Veränderung dieser Wirkung unter Regitin ist am Menschen eingehend von Bernsmeier u. Mitarb.[9, 10] und Heinzel u. Mitarb. untersucht worden. Unsere Befunde stimmen damit im wesentlichen überein, allerdings sahen wir bei 0,5 mg/kg noch keine völlige Blockierung der Nor-Adrenalinwirkung, während Bernsmeier schon bei 0,35 m/kg eine solche beschreibt.

Aus unseren Versuchen ergeben sich einige neue Gesichtspunkte zur Klärung des Mechanismus der Adrenalin-Umkehr des Blutdruckes durch Sympathicolytica. Es ist bekannt, daß die Blutdruckänderungen nach Adrenalin mehrphasisch sind. Nach einem kurzen Anstieg folgt ein kurzer Abfall gleichzeitig mit dem Anstieg der Herzfrequenz, danach in der dritten Phase ein längerer Anstieg, der die Hauptwirkung darstellt (Matthes). Bei kleinen Dosen kann die zweite Phase zur Hauptwirkung werden, ebenso nach Gabe von Sympathicolytica, die die dritte Phase blockieren sollen (Bernsmeier). Die zweite Phase wird von Bernsmeier gedeutet als Ausdruck der durch Adrenalin bewirkten Dilatation in verschiedenen Gefäßgebieten.

Die Annahme, die in grundsätzlicher Weise schon von Dale ausgesprochen wurde (vgl. auch Hardegg, Raule u. Schaefer), daß im Gegensatz zur constrictorischen die dilatatorische Adrenalinwirkung durch Sympathicolytica nicht beeinflußt wird, war bisher aus den erwähnten methodischen Gründen am Menschen schwer zu beweisen. Die vorliegenden Befunde sprechen eindeutig für diese Ansicht, nach der also die Adrenalin-Umkehr des Blutdruckes im wesentlichen so zustande kommt, daß die Adrenalin-Vasoconstriction ausgeschaltet oder stark vermindert wird, während die Dilatation unverändert bleibt. Hierfür spricht vor allem auch die zeitliche Übereinstimmung von muskulärer Vasodilatation und Blutdrucksenkung. Wodurch die Vergrößerung der Adrenalin-Vasodilatation nach Regitin zustande kommt, können wir noch nicht sagen. Vielleicht hängt sie mit der anderen Ausgangslage des Gefäßtonus nach Regitin zusammen.

Solange keine eindeutigen experimentellen Beweise vorliegen, erscheint uns die Annahme besonderer und spezifischer Mechanismen, wie sie etwa Wick vermutet, zur Erklärung der Adrenalin-Umkehr unnötig. In Anknüpfung an die Arbeiten von Palme nimmt Wick im Carotissinus afferente, adrenalinempfindliche, nicht sympathische Nerven an, die durch Ergotamin nicht zu blockieren seien und die reflektorisch den Druckabfall bei der Adrenalin-Umkehr auslösen sollen. Die von Wick veröffentlichten Kurven sind aber nicht beweisend für diese Ansicht, und zwar aus folgenden Gründen: Die typische Adrenalin-Umkehr des Blutdruckes, wie auch wir sie in unseren Versuchen sahen (Abb. 1 und 2), besteht aus einem unmittelbaren steilen Druckabfall kurz

nach der Adrenalininjektion, der nach 2—3 min wieder abgeklungen ist. In der Registrierung von Wick an der ergotaminisierten Katze sieht man dagegen während dieses Zeitraumes nach Adrenalin einen Druckanstieg von 75 auf 115 mm Hg, der $1^1/_2$ min nach der Injektion seinen Höhepunkt erreicht hat und nach 3 min wieder abgeklungen ist. Erst jetzt setzt eine sehr langsame Blutdrucksenkung auf 60 mm Hg ein. Nach Ausschaltung der Carotissinusnerven sieht man denselben Verlauf des Druckanstieges nach Adrenalin, nur bleibt der anschließende Druckabfall jetzt aus. Unserer Meinung nach handelt es sich bei diesen Versuchen also überhaupt nicht um eine Adrenalin-Umkehr, sondern um eine typische Drucksteigerung nach Adrenalin, die offensichtlich durch das Ergotamin nicht genügend blockiert war.

Auf den Mechanismus der Adrenalin- und Nor-Adrenalinwirkung auf die Muskeldurchblutung können wir in diesem Zusammenhang nur ganz kurz eingehen.

Allen, Barcroft u. Edholm haben schon 1946 am Menschen in plethysmographischen Versuchen durch intraarterielle Adrenalininjektionen und durch Injektionen bei Nervenblockade und Sympathektomie nachgewiesen, daß es sich bei der großen initialen Dilatation, die wir hier untersuchten, im wesentlichen um eine lokale Wirkung handelt. Die Wirkung von Nor-Adrenalin auf die Durchblutung muskelreicher menschlicher Extremitätenteile wurde eingehend von Barcroft u. Konzett und von Barcroft, Gaskell, Shepherd u. Whelan untersucht. Mit plethysmographischen Methoden fanden sie eine Abnahme der Durchblutung von Unterarm und Wade bei i.a.-Injektion, während diese bei i.v.-Injektion ausblieb oder sogar in eine Zunahme umschlug. In der früheren Arbeit[7] wurden diese Abweichungen durch Konzentrationsunterschiede und druckpassive Mehrdurchblutungen bei i.v.-Injektionen erklärt, während Barcroft u. Mitarb.[4] neuerdings annehmen, daß Nor-Adrenalin eine direkte, constrictorische und eine reflektorische, dilatatorische Wirkung über sympathische Nervenfasern auf die menschlichen Muskelgefäße habe. Die Befunde hierüber sind allerdings nicht einheitlich. Duncanson, Stewart u. Edholm fanden nach Nor-Adrenalin i.v. kleine Abnahmen der Unterarmdurchblutung, ebenso Barnett u. Mitarb. Alle diese Befunde sind schwierig zu deuten, da bei ihnen Haut- und Muskeldurchblutung nicht differenziert war. Cobbold u. Vass haben die Wirkung an der Katze untersucht und konnten feststellen, daß die Zunahme nach Nor-Adrenalin druckpassiv ist, denn bei Einschalten eines Kompensationsmechanismus in den arteriellen Zufluß bewirkte Nor-Adrenalin i.v. eine reine Abnahme der Muskeldurchblutung.

Wir selbst sahen bei den hier angewandten Nor-Adrenalindosen stets eine deutliche Abnahme, manchmal eine kleine initiale Zunahme, die zum Teil druckpassiv sein dürfte, soweit sich das bei auskultatorischen Messungen des Druckes entscheiden läßt. Die von uns beobachtete Dämpfung des Nor-Adrenalineffektes durch Regitin entspricht den Befunden der Tierexperimente und dem Verhalten der Nor-Adrenalinwirkung auf den Blutdruck. Im gleichen Maß wird auch die constrictorische Wirkung von Adrenalin und Nor-Adrenalin auf die Hautgefäße gedämpft, so daß anzunehmen ist, daß diese Wirkungen letztlich gleicher Natur sind, während die Dilatation der Muskelgefäße nach Adrenalin ein andersartiges Geschehen sein dürfte.

Zusammenfassung.

Es wurde die Wirkung von Adrenalin (10 γ i.v.) und Nor-Adrenalin (10—30 γ i.v.) auf die Muskel- und Hautdurchblutung des Menschen vor und nach Gabe von Regitin (20—60 mg i.v.) untersucht. Die Durchblutung der Wadenmuskulatur wurde mittels einer eingeführten Calorimetersonde fortlaufend registriert, während die Hautdurchblutung an der Fußsohle strömungscalorimetrisch aufgezeichnet wurde.

Die Adrenalin-Dilatation der Muskelgefäße wird durch Regitin nicht beeinflußt oder sogar noch verstärkt, während die Constriction der Hautgefäße deutlich abgeschwächt wird. Die constrictorische Wirkung von Nor-Adrenalin, die an Muskel- wie Hautgefäßen auftritt, wird in jedem Fall durch Regitin abgeschwächt, durch hohe Dosen (60 mg) völlig blockiert.

Die Befunde stützen die Annahme, daß es sich bei der „Adrenalin-Umkehr" des Blutdruckes um ein Weiterbestehen der vasodilatatorischen Komponente des Adrenalins bei Ausfall der constrictorischen handelt, also nur um eine quantitative Verschiebung schon vorher vorhandener Wirkungen.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

Literatur.

[1] Ahlquist, R. P.: Federat. Proc. **7**, 202 (1948). — [2] Ahlquist, R. P.: Federat. Proc. **8**, 270 (1949). — [3] Allen, W. J., H. Barcroft and O. G. Edholm: J. of Physiol. **105**, 255 (1946). — [4] Barcroft, H., P. Gaskell, J. T. Shepherd and R. F. Whelan: J. of Physiol. **123**, 443 (1954). — [5] Barcroft, H., and H. J. C. Swan: Sympathetic Control of Human Blood Vessels. London, 1953. — [6] Barcroft, H., H. Hensel and A. H. Kitchin: J. of Physiol. (im Druck). — [7] Barcroft, H., and H. Konzett: J. of Physiol. **110**, 194 (1949). — [8] Barnett, A. J., R. B. Blacket, A. E. Depoorter, P. H. Sanderson and G. M. Wilson: Clin. Sci. **9**, 151 (1950). — [9] Bernsmeier, A.: Acta neurovegetativa (Wien) Suppl. 5 (1954). — [10] Bernsmeier, A., H. Esser u. J. Becker: Z. exper. Med. **121**, 430 (1953). — [11] Bücherl, E., u. M. Schwab: Pflügers Arch. **254**, 327 (1952). — [12] Cobbold, A. F., and C. C. N. Vass: J. of Physiol. **120**, 105 (1953). — [13] Dale, H. H.: J. of Physiol. **34**, 163 (1906). — [14] Dittmar, H. A., K. Mechelke u. E. Nusser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 89 (1954). — [15] Dörner, J.: Pflügers Arch. **257**, 464 (1953). — [16] Dörner, J.: Arch. Kreislaufforsch. **21**, 88 (1954). — [17] Duncanson, D., T. Stewart and O. G. Edholm: Federat. Proc. **8**, 37 (1949). — [18] Eichler, O., F. Linder u. K. Schmeiser: Klin. Wschr. **1949**, 480. — [19] Golenhofen, K.: Inaug. Diss. Heidelberg (1955). — [20] Grant, R. T., and R. S. B. Pearson: Clin. Sci. **3**, 119 (1938). — [21] Gross, F., J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 352. — [22] Hardegg, W., W. Raule u. H. Schaefer: Acta physiol. scand. (Stockh.) **29**, 50 (1953). — [23] Heinzel, F., K. Matthes, K. Mechelke u. E. Nusser: Cardiologia (Basel) **21**, 743 (1952). — [24] Hensel, H.: Z. Kreislaufforsch. **41**, 251 (1952). — [25] Hensel, H., u. J. Ruef: Pflügers Arch. **259**, 267 (1954). — [26] Hensel, H., J. Ruef u. K. Golenhofen: Z. Kreislaufforsch. **43**, 756

(1954). — [27] Hensel, H., u. K. D. Bock: Pflügers Arch. **260**, 331 (1955). — [28] Hochrein, M., u. J. Keller: Pflügers Arch. **156**, 37 (1930). — [29] Kety, S. S.: Amer. Heart J. **38**, 321 (1949). — [30] Kleinsorg, H., u. J. Schmier: Pflügers Arch. **254**, 430 (1952). — [31] Kühns, K.: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 357. — [32] Kühns, K.: Helvet. med. Acta **17**, 215 (1950). — [33] Lanier, J. T., H. D. Green, J. Hardaway, H. D. Johnson and W. B. Donald: Circulation (New York) **1**, 40 (1953). — [34] Matthes, K.: Kreislaufuntersuchungen mit fortlaufend registrierenden Methoden am gesunden Menschen. Stuttgart: Thieme 1951. — [35] Meier, R., u. F. Gross: Helvet. physiol. Acta **8**, 424 (1950). — [36] Nickerson, M.: J. Pharm. pharm. Rev. **1**, 27 (1949). — [37] Palme, F.: Z. exper. Med. **113**, 415 (1944). — [38] Walder, D. N.: Clin. Sci. **12**, 153 (1953). — [39] Wezler, K., u. F. Schlüter: Abh. Akad. Mainz, Math.-naturw. Kl. Jg. **1953**, 415. — [40] Wick, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 490 (1948).

Doz. Dr. H. Hensel, Heidelberg, Physiologisches Institut, Akademiestr. 3.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 279—286 (1955).

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Szeged/Ungarn
(Direktor: Prof. Dr. I. Gy. Fazekas).

Nachweis von Glucocorticoiden in der Leber.

Von
I. Gy. Fazekas.

(Eingegangen am 29. November 1954.)

In früheren Untersuchungen wurde nachgewiesen (Fazekas, 1954), daß durch die Verabreichung von Extrakten, die aus Lebern von Kaninchen mit hypertrophischen Nebennieren mittels der Methode von Swingle u. Pfiffner für Herstellung von Nebennierenrindenextrakten hergestellt wurden, adrenalektomierte Mäuse am Leben gehalten werden können. Daraus wurde die Folgerung gezogen, daß die Leber Nebennierenrindensteroide enthält oder speichert. In dieser Arbeit wird über den Einfluß des Leberextraktes von *normalen* Kaninchen auf den Kohlenhydratstoffwechsel berichtet.

Zahlreiche Untersucher (Bierry u. Malloizel, Porges, Schwarz, Kuriyama, Zwemer, Cori u. Cori) bestätigten, daß der Kohlenhydratstoffwechsel durch die Funktion der Nebennierenrinde beeinflußt wird. Fazekas (1943) fand bei Kaninchen mit hypertrophischen Nebennieren den Glykogengehalt in Leber u. Muskulatur wesentlich höher als bei Kaninchen mit normalen Nebennieren. Es ist anzunehmen, daß die Glucocorticoide auch an den Stellen der Glykogenspeicherung, so z. B. in der Leber und Muskulatur vorhanden sind. Wenn das der Fall ist, so können sie wahrscheinlich auch in diesen Organen vorgefunden werden. Wir haben aus der Leber normaler, gesunder Kaninchen einen Extrakt mit der Methode von Swingle-Pfiffner auf dieselbe Weise gewonnen, wie üblicherweise ein Nebennierenrindenextrakt hergestellt wird. Dieser Leberextrakt wurde adrenalektomierten Mäusen verabreicht und danach der Glykogengehalt in Leber und Muskulatur der Tiere bestimmt. Ferner wurde der Extrakt Ratten verabfolgt und danach der Blutzucker und Glykogengehalt in Leber und Muskulatur bestimmt.

Herstellung des Leberextraktes. — 1 kg frische Kaninchenleber wurde mit einer Fleischmahlmühle zerkleinert, 6 Tage lang bei Zimmertemperatur (20° C) mit 2,5 l 85%igen Alkohols, nach Filtration wieder 6 Tage mit 2,5 l 80%igen Alkohols extrahiert. Danach wurden die vereinigten und filtrierten Alkoholextrakte im Vacuum auf einem Wasserbad von 25—30° C auf 50 cm^3 eingeduns tet und 5mal nacheinander mit je 50 cm^3 Benzol extrahiert. Das wäßrige Residuum wurde verworfen. Das Benzol wurde im Vacuum entfernt, der Rest 3mal mit je 120 cm^3 Aceton extrahiert, das Aceton nach Vereinigung der Lösungen gleichfalls im Vacuum

entfernt; das so gewonnene Residuum wurde mit einem Gemisch von 120 cm³ Petroläther und 120 cm³ 70%igem Alkohol 3mal ausgeschüttelt. Die im Alkohol lösliche Fraktion wurde durch 10 g ammoniakfreies Permutit filtriert und danach im Vacuum auf 100 cm³ eingedunstet. 1 cm³ dieser Flüssigkeit enthält eine 10 g frischer Leber entsprechende Stoffmenge. Das Filtrat dieser Lösung ist eine hellgelbe, durchsichtige Flüssigkeit, zu der zwecks Konservierung 0,01% Acidum benzoicum gegeben wurde. Der Extrakt wurde dann in Ampullen gefüllt, im Kühlschrank bei konstanter Temperatur von +2° C aufbewahrt. Vor Gebrauch wurde er auf 25° C erwärmt und dann subcutan verabreicht.

Unser Leberextrakt war in 85—70%igem Alkohol, in Benzol, Aceton gut löslich, in Petroläther unlöslich. Die Biuret- und Xanthoprotein-Reaktion, sowie die Millonsche Probe waren negativ, *der Extrakt enthielt also kein Eiweiß*. Die Gallenfarbstoffproben (nach Gmelin, Fouchet, sowie mit Jodtinktur) fielen gleichfalls negativ aus. Die Pollakschen Gesamtlipoid- und Liebermannschen Cholesterinbestimmung waren negativ. Die 17-Ketosteroidbestimmung erfolgte an Hand der Callowschen Urinmethode (Zimmermannsche Reaktion). In 0,2 cm³ Leberextrakt war — ohne Ausschüttlung mit Äther und unmittelbar eingemessen — eine Farbenreaktion nachzuweisen, die 0,2 mg = 100 mg-% eines ketosteroidartigen Stoffes entsprach. Rechnung ergab, daß in 10 g Leber 1,0 m g ketosteroidartiger Stoff vorzufinden ist. Der Extrakt war, im Kühlschrank bei +2° C aufbewahrt, noch nach einem Jahr wirksam, nach 1½ Jahr jedoch um die Hälfte weniger.

Die biologische Wirkung des Leberextraktes wurde zuerst an der Glykogenspeicherung, also einem glucocorticoidartigen Effekt geprüft.

Für die Auswertung von Glucocorticoiden injizierten Reinecke u. Kendall das Untersuchungsmaterial am 4. Tag nach Adrenalektomie Ratten in stündlichen Abständen. 1—2 Std nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet und der Glykogengehalt der Leber bestimmt. Die doppelte Dosis von Nebennierenrindenextrakt steigerte das Leberglykogen beinahe aufs Vierfache. Olson u. seine Mitarb. modifizierten diese Methode, indem sie die Ratten nach der Operation bei eiweißreicher Diät hielten; sie fanden schließlich zwischen dem Logarithmus der Volldosis des angewandten Leberextraktes und der Menge des Leberglykogens ein gerades Verhältnis. Die adrenalektomierten Mäuse zeigen in dieser Hinsicht — gegenüber den Ratten — eine etwa zehnfache Empfindlichkeit, weshalb viele Forscher diese Tiere für den Glucocorticoidnachweis benützen. Venning, Kazmin u. Bell fanden, daß nach Adrenalektomie die verabreichte Glucose die Empfindlichkeit der Versuchstiere in großem Maße steigert, so daß schon 0,1 cm³ Rindenextrakt eine meßbare Glykogenspeicherung verursacht, und auch die aus 500 cm³ Urin gewonnene Glucocorticoidmenge mit dieser Methode bestimmbar ist. Die Ergebnisse werden im allgemeinen als E-Verbindung (Cortison)-Wert ausgedrückt. Unter dem Einfluß einer subcutanen Injektion von 0,05 mg E-Verbindung steigert sich der Leberglykogengehalt von adrenalektomierten Mäusen pro 100 g Körpergewicht auf 100 mg, die nichtbehandelten adrenalektomierten Mäuse weisen dagegen nur einen Wert von 4—10 mg auf. Der Zusammenhang zwischen dem Logarithmus der Dosis und dem Wert des Leberglykogens wurde als linear gefunden. Eggleston, Johnston u. Dobringer steigerten die Steroiddosen bei adrenalektomierten Mäusen, bis die verabreichte Menge das Leberglykogen auf 70—130 mg pro 100 g Körpergewicht erhob.

Von uns wurde die Methode von Venning, Kazmin u. Bell zur biologischen Auswertung der Glykohormone folgendermaßen angewandt:

24 männliche weiße Mäuse von gleicher Abkunft, gleicher Ernährung und gleichem Gewicht (20 g) wurden 2 Tage bei folgender eiweißreichen Diät gehalten:

67,5% Weizen, 15% Casein, 10% Vollmilchpulver, 5% Butter, 1,5% Calciumcarbonat und 1% Natriumchlorid. Am 3. Tag wurden ihnen beide Nebennieren in Äthernarkose entfernt. Die Tiere wurden weitere 3 Tage nach der Operation bei der gleichen eiweißreichen Diät im warmen Raum gehalten. Zum Trinken erhielten sie am Tage der Operation eine Lösung mit 5% Glucose und 0,9% Kochsalz, am 2. und 3. postoperativen Tag aber nur Kochsalzlösung. Am 3. Tag abends wurde die Nahrung entzogen, am 4. Tag morgens auch die Kochsalzlösung. An den so präparierten Mäusen wurde die eigentliche Untersuchung am 4. postoperativen Tag vorgenommen. Von 3 Gruppen mit je 8 Mäusen geteilt, bekam die erste, die als Kontrolle diente, überhaupt keine Behandlung. In der 2. Gruppe bekam jedes Tier während 5 Std 15 min 7mal je 0,2 cm^3 Untersuchungsmaterial samt Glucose subcutan injiziert. Den Tieren der 3. Gruppe wurde ebenfalls Glucose verabreicht, aber um 50% weniger Leberextrakt. Die Lösungen enthielten also stets 1,45 cm^3 96% Alkohols und 0,7 g Glucose, doch bei der 2. Gruppe 3 cm^3 Leberextrakt und 9,55 cm^3 Aqua dest, bei der 3. Gruppe 1,5 cm^3 Leberextrakt und 11,05 cm^3 Aqua dest, insgesamt stets 14,0 cm^3.

Eine Std nach der letzten Injektion wurden die Tiere geköpft, die Leber sofort entfernt und der Glykogengehalt nach Good, Kramer u. Somogyi bestimmt. Nach Hydrolyse des isolierten und gereinigten Glykogens wurde die Zuckerlösung auf 20 cm^3 aufgefüllt und nach Hagedorn u. Jensen bestimmt. Die erhaltenen Werte, mit 0,925 multipliziert, ergaben die entsprechenden Glykogenwerte (in mg-% auf 1 g Leber). Auf gleiche Weise wurde der Glykogengehalt des Muskels bestimmt. Als Kontrolle wurde der Leber- und Muskelglykogengehalt nicht nur der Mäuse der 1. Gruppe, sondern auch der von 8 anderen, normalen Mäusen von gleichem Gewicht bestimmt.

Die erhobenen Glykogenwerte sind in Tab. 1 verzeichnet.

Das Leberglykogen betrug bei den mit 0,3 cm^3 behandelten Tieren im Mittelwert 16,3-, das Muskelglykogen 10,2mal mehr, als bei den gleichernährten, aber nicht behandelten adrenalektomierten Kontrollmäusen. Das Leberglykogen nach 0,15 cm^3 Leberextrakt betrug 9,2- und 7,9mal mehr.

Diese Daten zeigen also, daß der Leberextrakt von Kaninchen — in geradem Verhältnis zur verabreichten Menge — den Leber- und Muskelglykogengehalt von adrenalektomierten Mäusen in großem Maße steigert, und zwar das erste in größerem Maße, als das letzte. Der von uns hergestellte Leberextrakt enthält also *einen Wirkstoff, der die Glykogenspeicherung in Leber und Muskulatur befördert, das heißt dieselbe Wirkung ausübt wie die durch die Nebennierenrinde erzeugten sogenannten Glucocorticoidhormone.*

Danach wurde der Einfluß des Extraktes aus normaler Kaninchenleber auf den Blutzucker-, Leber- und Muskelglykogengehalt von normalen Ratten untersucht. Zu verschiedenen Zeitpunkten wurde der Nüchtern-Blutzucker von 10 normalen Kontrollratten ohne jede Behandlung, Blutzucker-, Leber- und Muskelglykogengehalt von 5 weiteren Ratten nach subcutaner Einspritzung von 0,1 cm_3 physiologischer Kochsalzlösung pro 10 g Körpergewicht, sowie nach 0,1 cm^3 Leberextrakt (subcutan) pro 10 g Körpergewicht an 10 weiteren Ratten bestimmt.

Tab. 2 enthält die Ergebnisse bei den Kontrolltieren, Tab. 3 nach Verabreichung von Leberextrakt.

Der Nüchtern-Blutzucker von den 10 normalen Kontrolltieren, sowie nach subcutaner Injektion von 0,1 cm³ physiologischer Kochsalzlösung pro 10 g Körpergewicht zeigte nur eine Schwankung unter ± 7 mg-%, was sich innerhalb der Fehlergrenze befindet. Auch Leber- und Muskelglykogenwerte weisen bei den Kontrollratten keine beachtenswerte Abweichung auf.

Hingegen stieg nach Leberextrakt der Blutzucker- sowie Glykogengehalt in Leber und Muskulatur von 5 normalen sowie von 5 weiteren

Tabelle 1.

Glykogengehalt der Leber und Muskulatur A. bei normalen Mäusen; B. bei adrenalektomierten, nichtbehandelten Mäusen (1. Kontrollgruppe); C. bei mit Leberextrakt von normalen Kaninchen behandelten, adrenalektomierten Mäusen (2. u. 3. Gruppe). — Die Tiere unter B. und C. wurden mit eiweißreicher Diät ernährt. —

Nr.	A		B		C			
	Normale Mäuse		Mit eiweißreicher Diät ernährte, adrenalektomierte Mäuse					
			1. Kontrollgruppe nichtbehandelt		mit Leberextrakt von normalen Kaninchen behandelt			
					2. Gruppe (0,3 cm³ Extrakt)		3. Gruppe (0,15 cm³ Extrakt)	
	Leber-	Muskel-	Leber-	Muskel-	Leber-	Muskel-	Leber-	Muskel-
	glykogen mg-%							
1.	1627	1211	74	32	814	312	819	335
2.	2101	1346	70	19	935	312	512	287
3.	2645	1251	68	43	1050	675	553	372
4.	2345	2137	83	63	1250	387	597	285
5.	2114	1500	62	46	1150	250	625	287
6.	3194	1663	53	42	1458	510	662	263
7.	2370	1374	60	41	887	310	625	312
8.	2852	1466	82	22	1328	412	727	315
Mittelwert:	2282	1493	69	38,5	1109	396	640	307

Ratten nach 24 Std Hunger wesentlich an. Der maximale Anstieg des Blutzuckers betrug ½—2 Std nach der Injektion im Mittel 70,9%, des Leberglykogens 33,6%, des Muskelglykogens 14%.

Unter Einfluß der subcutanen Leberextrakt-Injektion erfolgte nach einem Hunger von 24 Std, nur eine geringere maximale Blutzuckersteigerung. Doch konnte die sonst durch Hungern verursachte Hypoglykämie durch den Leberextrakt aufgehoben werden. Das Leber- und das Muskelglykogen der nach dem Hungern mit Leberextrakt behandelten Ratten betrugen weniger, als bei den nicht hungernden, aber auf gleiche Weise behandelten Ratten, deckte sich aber mit den Werten der normalen, nicht behandelten Ratten ohne Hunger. Der Leberextrakt hob also nicht nur die infolge des Hungerns auftretende Hypoglykämie auf,

Tabelle 2. *Blutzucker-, Leberglykogen- und Muskelglykogengehalt von normalen, nichtbehandelten, sowie mit physiologischer Kochsalzlösung subcutan behandelten Kontrollratten.*

Nr.	Körpergewicht	Anfangsblutzucker	Blutzucker nach 10 min	30 min	1 Std	2 Std	Maximale Änderung des Blutzuckers: nach min	in mg-%	in %	Leberglykogen nach 1 Std	2 Std	Muskelglykogen nach 1 Std	2 Std
	g	mg-%								mg-%			
Normale, nichtbehandelte Kontrollratten:													
1.	80	111	108	110	111	—	10	—3	—2,8	2161	—	1555	—
2.	80	111	109	106	104	—	60	—7	—6,3	1745	—	1667	—
3.	70	108	110	108	104	—	60	—4	—3,7	3175	—	1698	—
4.	80	111	111	112	111	—	30	+1	+0,9	2883	—	1869	—
5.	80	101	103	101	101	—	10	+2	+1,9	3107	—	2161	—
6.	80	113	110	112	—	115	120	+2	+1,7	—	2628	—	1844
7.	85	116	115	114	—	109	120	—7	—6,2	—	2463	—	1754
8.	85	117	114	118	—	121	120	+4	+3,4	—	2516	—	1896
9.	75	103	100	101	—	103	10	—2	—1,9	—	2319	—	2054
10.	70	102	102	106	—	109	120	+7	+6,8	—	2714	—	1952
Mittelwert:		109,3	108,2	108,2	106,2	111,4	—	—	—	2614	2528	1790	1900
Nach Einspritzung von physiologischer *Kochsalzlösung:*													
1.	60	151	151	147	148	153	30	—4	—2,6	1865	—	1265	—
2.	70	142	139	138	138	141	30	—4	—2,8	2750	—	1980	—
3.	60	150	148	146	151	152	30	—4	—2,6	2160	—	1670	—
4.	55	138	139	137	140	137	60	+2	+1,4	2530	—	1790	—
5.	60	142	142	138	136	140	60	—6	—4,2	2820	—	2030	—
Mittelwert:		144,6	144,0	141,0	144,6	144,6	—	—	—	2425	—	1747	—

sondern stellte sogar den Glykogengehalt in Leber und Muskulatur wieder her.

Unsere experimentellen Angaben zeigen also, daß durch die Einspritzung des Extraktes aus normaler Kaninchenleber bei hungernden Tieren eine Blutzuckersteigerung, Aufhebung der Hungerhypoglykämie, sowie Steigerung, bzw. Normalisierung (Wiederherstellung) des Leber- und Muskelglykogens erzielt werden kann. *Der von uns hergestellte Leberextrakt entfaltet also auf den Kohlenhydratstoffwechsel einen gleichen Einfluß, wie die aus den Nebennieren gewonnenen, oder auf synthetischem Weg*

Tabelle 3. *Einfluß subcutaner Einspritzung des Leberextraktes von normalen, nichtbehandelten Kontrollkaninchen auf den Blutzucker-, Leberglykogen- und Muskelglykogengehalt von Ratten.*

Nr.	Körpergewicht	Anfangsblutzucker	Blutzucker nach 10 min	30 min	1 Std	2 Std	Maximale Änderung des Blutzuckers nach min	in mg-%	in %	Leberglykogen nach 2 Std.	Muskelglykogen nach 2 Std.
	g	mg-%								mg-%	
Bei *normalernährten Ratten:*											
1.	60	101	98	138	165	150	60	+ 64	+ 63,3	3678	2868
2.	65	105	100	162	156	133	30	+ 57	+ 54,2	3930	2425
3.	60	98	94	109	170	172	120	+ 74	+ 75,5	4112	2113
4.	70	109	128	141	152	186	120	+ 77	+ 70,6	3415	1687
5.	60	102	103	120	140	195	120	+ 93	+ 91,1	3954	1734
Mittelwert:		103	104	134	156	167	—	+ 73	+ 70,9	3811	2165
Bei 24 Std lang *hungernden Ratten:*											
6.	60	75	74	79	105	120	120	+ 45	+ 60,0	2192	1427
7.	70	98	115	104	98	101	10	+ 17	+ 17,3	2436	1250
8.	65	68	74	86	119	98	60	+ 51	+ 76,1	1979	1386
9.	70	95	145	134	118	119	10	+ 50	+ 52,6	2193	1294
10.	70	98	115	119	139	125	60	+ 41	+ 41,8	2251	819
Mittelwert:		84	108	104	116	106	—	+ 41	+ 49,9	2210	1235

hergestellten sogenannten Glucocorticoide. Auf Grund seiner chemischen und biologischen Eigenschaften halten wir den auf den Kohlenhydratstoffwechsel wirkenden Stoff unseres Leberextraktes für identisch mit Glucocorticoiden, oder mit einem von ihnen. Es hat den Anschein, als ob sich neben dem Glykogen auch Glucocorticoide an die Leber und die Muskulatur binden. Mit einer größeren Glucocorticoidmenge geht wahrscheinlich ein höherer Glykogengehalt einher, d. h. die Menge des Leber- und Muskelglykogens steht mit den daran gebundenen Glucocorticoiden in geradem Verhältnis, was durch gleichzeitige quantitative Bestimmung des Glykogen- und Glucocorticoidgehaltes in Leber und Muskulatur entschieden werden kann.

Die Frage ist von pathologischer, wie von therapeutischer Bedeutung. Unserer Meinung nach könnte z. B. im Falle einer Hepatitis durch Verabreichung von Glucocorticoiden die Verfettung und Zerstörung der Leberzellen gehemmt und dadurch eine Genesung erzielt werden. — Zum Schluß soll noch erwähnt werden, daß nach SWINGLE u. REMINGTON nicht nur die Glucocorticoide der Nebennieren, sondern auch die natürlichen Oestrogene und das Diäthylstilböstrol imstande sind, den Leberglykogengehalt zu steigern. Diese Wirkung halten sie für eine indirekte, über die Hypophyse-Nebennieren gehende, da diese Verbindungen bei hypophysektomierten oder adrenalektomierten Tieren keine Leberglykogensteigerung bewirken. Da der von uns hergestellte Leberextrakt den Leber- und Muskelglykogengehalt auch in adrenalektomierten Mäusen steigerte, kann das Vorhandensein von Oestrogenstoffen hier ausgeschlossen werden.

Zusammenfassung.

1. Aus der Leber von Kaninchen wurde mittels der SWINGLE u. PFIFFNERschen Methode ein Extrakt hergestellt, der in jedem cm^3 eine 10 g Leber entsprechende Wirkstoffmenge enthält.

2. Dieser Leberextrakt ist von Eiweiß und Gallenfarbstoff frei, enthält keine Fette, Fettsäuren oder Cholesterin; ist in Alkohol, Benzol und Aceton gut löslich, in Petroläther aber unlöslich. An Hand der nach CALLOW durchgeführten ZIMMERMANNschen Reaktion wurden in 1 kg Leber 100 mg eines ketosteroidartigen Stoffes vorgefunden. Die Wirkung dieses Extraktes auf den Kohlenhydratstoffwechsel wurde untersucht.

3. 0,3 cm^3 Leberextrakt in 7 subcutanen Injektionen 20 g schweren, adrenalektomierten Mäusen (bei eiweißreicher Diät) erhöhte den Leberglykogengehalt aufs 16,3fache, den Muskelglykogengehalt aufs 10,2fache der Werte der nichtbehandelten adrenalektomierten Kontrollmäuse.

4. 0,15 cm^3 Leberextrakt erhob — unter gleichen Umständen — den Leberglykogengehalt adrenalektomierter Mäuse im Mittel aufs 9,2fache, den Muskelglykogengehalt aufs 7,9fache.

5. 0,1 cm^3 Leberextrakt pro 10 g Körpergewicht steigerte den Blutzucker normaler Ratten binnen 30 bis 120 min im Mittel um 62,8%, den Leberglykogengehalt um 33,6%, den Muskelglykogengehalt um 14% der Werte von gleichernährten, normalen, nichtbehandelten Kontrollratten.

6. Das Leberextrakt hob bei normalen Ratten nach 24 Std Hunger binnen 10—120 min die Hypoglykämie auf, steigerte den Blutzuckergehalt zur Norm oder ein wenig darüber, und hob den Leber- und Muskelglykogengehalt auf ein der Norm nahestehendes Niveau.

7. Auf Grund seiner chemischen und biologischen Eigenschaften glauben wir, daß der von uns hergestellte Leberextrakt ein den Glucocorticoiden der Nebennierenrinde identisches Hormon enthält, mit anderen Worten: *in der Leber speichern sich Glucocorticoide.* Es ist anzunehmen, daß die Glucocorticoidmenge zu dem Glykogengehalt in geradem Verhältnis steht.

Literatur.

Bierry, H., et L. Malloizel: C. r. Soc. Biol. (Paris) **65**, 232 (1908). — Britton, S. W., and H. Silvette: Amer. J. Physiol. **118**, 594 (1937). — Britton, S. W., H. Silvette and R. F. Kline: Amer. J. Physiol. **122**, 446 (1938). — Bomskov, Ch., u. K. Bahnsen: Methodik der Hormonforschung Bd. 1. Leipzig: G. Thieme 1937. — Callow, N. H.: Endocrinology (Springfield, Ill.) **1**, 76 (1939). — Cori, C. F., and G. T. Cori: J. of Biol. Chem. **74**, 473 (1927). — Eggleston, N. M., B. J. Johnston and K. Dobriner: Endocrinology (Springfield, Ill.) **38**, 197 (1946). — Fazekas, I. Gy.: Magy. Path. Társaság Munk. 1942—1943. Budapest. Mästung durch Steigerung der Nebennierenrindenfunktion. Acta Med. Tom. 12, Fasc. 2, Szeged/Ungarn. — Fazekas, I. Gy.: Endokrinologie **31**, 365 (1954). — Good, C. A., H. Kramer and M. Somogyi: J. of Biol. Chem. **100**, 485 (1933). — Hagedorn u. Jensen: Biochem. Z. **135**, 46 (1923); **137**, 92 (1923). — Kuriyama, S.: J. of Biol. Chem. **34**, 287 (1918). — Olson, R. E., F. A. Jacobs, D. Richert, S. A Thayer, L. J. Kopp and N. J. Wade: Endocrinology (Springfield, Ill.) **35**, 430 (1944). — Porges, O.: Z. klin. Med. **69**, 341 (1909). — Reinecke, R. M., and E. C. Kendall: Endocrinology (Springfield, Ill.) **31**, 573 (1942). — Schwarz, O.: Pflügers Arch. **134**, 259 (1910). — Swingle, W. W., and J. J. Pfiffner: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **28**, 510 (1931). — Amer. J. Physiol. **96**, 153, 164 (1931); **98**, 144 (1931). — Medicine (Baltimore) **11**, 371 (1932). — Swingle, W. W., and J. W. Remington: Physiologic. Rev. **24**, 89 (1944). — Thaddea, S.: Die Nebennierenrinde. Leipzig: G. Thieme 1936. — Venning, E. H., V. E. Kazmin and J. C. Bell: Endocrinology (Springfield, Ill.) **38**, 79 (1946). — Venning, E. H. u. a.: Conference on Metabolic Aspects of Convalescence Including Bone and Wound Healing, June 15-16 (1945). Josiah Macy Jr. Foundation (New York). — Zimmermann, W.: Vitamine und Hormone (Leipzig) **5**, 1, 124, 152, 170, 237, 260, 276 (1944). — Z. physiol. Chem. **233**, 257 (1935), **243**, 45 (1936). — Zwemer, R. L.: Amer. J. Physiol. **79**, 658 (1927).

Prof. Dr. I. Gy. Fazekas, Szeged/Ungarn, Institut f. gerichtl. Medizin d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 287—292 (1955).

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, Tübingen
(Direktor: Prof. Dr. A. Butenandt).

Eine Methode zur Messung von Funktionsänderungen in der Endstrombahn eines durchströmten Rattenhinterleibes.

Von
G. Ruhenstroth-Bauer und W. Kübler.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Dezember 1954.)

Die Erythrocytenkonzentration im Blut unterliegt sehr wahrscheinlich einer vierfachen Steuerung[8]: der Erythropoese und Hämolyse als langfristig wirkenden, der Blutverdünnung und -eindickung als schnell wirkenden Faktoren. Bei dem Erythropoesemechanismus[4, 6] sowie bei der Blutverdünnung nach Aderlaß[7] wurde im Parabioseversuch nachgewiesen, daß mindestens ein stoffliches Prinzip in jede der Wirkketten eingeschaltet ist. — Die Blutverdünnung nach Aderlaß kommt durch einen Eintritt von Intercellularflüssigkeit in den Kreislauf zustande. Es liegt daher nahe, den Angriffspunkt der Verdünnung am Ort des Flüssigkeitsaustausches, d. h. im Capillarbereich zu suchen. Zur weiteren Bearbeitung des Verdünnungsmechanismus war es deshalb notwendig, einen zuverlässigen quantitativen Test für das Verhalten der Endstrombahn zu finden, der es ermöglicht, Extrakte aus körpereigenem Material auf ihre „Verdünnungswirkung" zu prüfen. Im folgenden wird eine solche Versuchsanordnung beschrieben. Hierbei werden Rattenhinterleiber unter konstantem Druck kontinuierlich durchströmt. Als Durchströmungsflüssigkeit werden Erythrocytensuspensionen verwendet. Die Gewichtszunahme der Präparate gestattet quantitative Aussagen über die Bilanz der Flüssigkeitsbewegung durch die Capillarwand. Die Menge der in der Zeiteinheit bei definiertem hydrostatischem Druck durch das Präparat laufenden Flüssigkeit ermöglicht weiter Schlüsse auf den peripheren Gesamtwiderstand, in erster Linie also auf den Kontraktionszustand der Arteriolen.

Methodik.

A. Präparation der Versuchsobjekte.

Männliche Albinoratten werden dekapitiert; ihr Rückenmark wird sorgfältig ausgebohrt, dann wird das Präparat von der Aorta unter Druck mit 40 cm³ Periston durchgespült. Nach Abtragen der oberen Körperhälfte längs der 10. Rippe und

Entfernen der Baucheingeweide werden in Aorta und V. cava caud. 2 weite Kanülen so eingebunden, daß die Nierengefäße durch 2 Ligaturen, die dicht caudal von diesen Gefäßen liegen, von dem durchströmten Bereich abgesperrt sind. Das Präparat wird dann so auf der einen Schale einer empfindlichen Waage befestigt,

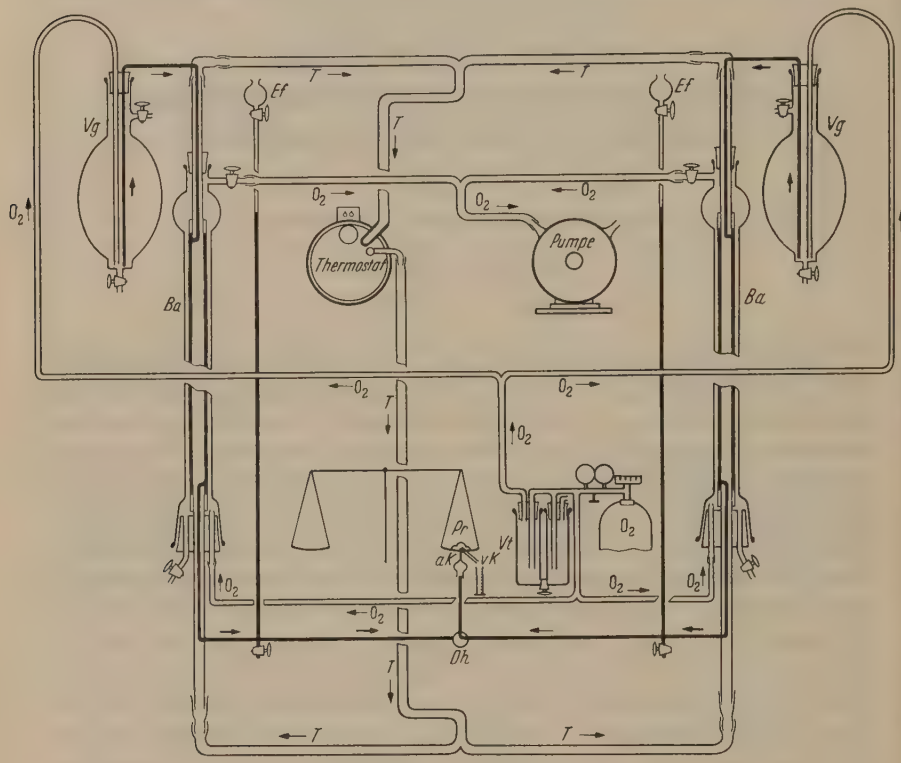


Abb. 1. Schema der Versuchsanordnung.

daß die aus der Venenkanüle (vK) abtropfende Durchströmungsflüssigkeit quantitativ in einem Meßzylinder aufgefangen wird. Die Präparation dauert bis dahin etwa 13—15 min.

B. Apparative Versuchsanordnung.

Die Anordnung (Abb. 1) ist gedoppelt; durch Umlegen eines Dreiwegehahns (*Dh*) kann die Durchströmungsflüssigkeit sehr schnell gewechselt werden. Der Durchströmungsdruck wird mittels Niveaugefäßen (*Vf*) nach dem Prinzip Mariottescher Flaschen konstant gehalten. Aus diesen Gefäßen fließt die Durchströmungsflüssigkeit über „Beatmungsrohre" (*Ba*), in denen sie mit Sauerstoff angereichert und auf konstante Temperaturen gebracht ist, über den Dreiwegehahn (*Dh*) durch die Aortenkanüle (*aK*) ins Präparat. — Als Durchströmungsflüssigkeit verwenden wir eine 20%ige Suspension von gepackten Rindererythrocyten, die 2mal in physiologischer Kochsalz-Glucose-Lösung (p_H 6,5—7) und einmal in Tyrodelösung gewaschen und in verschieden konzentrierten Kollidon-Tyrode-Lösungen aufgeschwemmt werden. Die Rindererythrocyten lassen sich

1 Woche konservieren, ohne daß sich ihre Verwendbarkeit merklich ändert. Das Blut wird hierzu sofort nach Anstich beim Rind mit einem Stabilisator (9) im ungefähren Verhältnis 4:1 unter sterilen Bedingungen gemischt und bei 4° gehalten.

Die Sauerstoffbeladung und Erwärmung der Erythrocytensuspension geschieht im Beatmungsrohr (Abb. 2). Dieses arbeitet analog der Wirbeltierlunge nach dem Prinzip einer Gasdialyse. Durch den zylindrischen Innenteil des Rohrs kreist eine von einem Thermostaten konstant auf 42° gehaltene Wärmeflüssigkeit (*T*). Über diesen Innenteil ist ein Dialysierschlauch gezogen. Zwischen ihm und dem Innenrohr fließt die Durchströmungsflüssigkeit in dünner Schicht. Der Dialysierschlauch trennt die Erythrocytenaufschwemmung von einer im äußeren Mantelrohr befindlichen Tyrodelösung, durch die mittels einer Vakuumpumpe das Beatmungsgas aus einer Druckflasche gesaugt wird. Das Beatmungsgas tritt durch Capillaren in die Tyrodelösung ein; die Weite der Capillaren bestimmt den notwendigen Sog und damit zugleich die Dicke der zwischen Innenteil und Dialysiermembran fließenden Schicht der Durchströmungsflüssigkeit.

Zwischen Druckflasche und Niveaugefäß ist ein Überdruckventil (*Vt*) eingebaut, das dafür sorgt, daß der Beatmungsdruck in den Gefäßen gleich dem Luftdruck ist. Das Um- und Einfüllen der Durchströmungsflüssigkeit in die Beatmungsrohre muß, um eine Ansammlung von Gasblasen in deren Kopfteil zu vermeiden, von unten nach oben geschehen. Dies ermöglichen die Einfülltrichter (*Ef*). Bei den Schlauchteilen der Anordnung haben sich PVC-Schläuche bewährt.

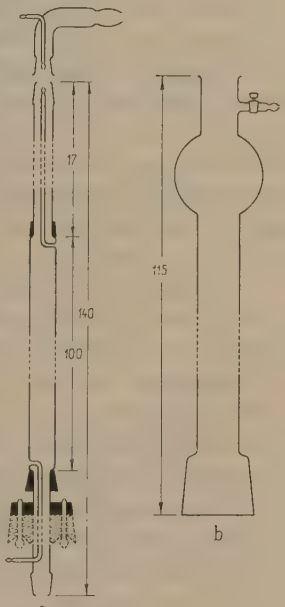


Abb. 2. Skizze eines Beatmungsrohrs im Maßstab 1:4. *a* Innenteil, *b* Mantelrohr.

Besprechung.

Das Ziel unserer Untersuchungen, zuverlässige Aussagen über Funktionsänderungen in der Endstrombahn machen zu können, stellte an die Methode folgende Bedingungen: 1. Es sollte unter möglichst lebensnahen Gegebenheiten gearbeitet werden. 2. Unkontrollierbare Faktoren in der Versuchsanordnung sollten vermieden werden. 3. Es sollte möglich sein, am gleichen Präparat einen Leerkontroll- und einen Testversuch auszuführen. 4. Die Versuche sollten auch untereinander möglichst gut vergleichbar sein. Aus diesem Grunde mußte auch das Tiermaterial einfach zu beschaffen und gleichartig sein. 5. Bei der Durchströmung sollte im arteriellen Schenkel immer die gleiche Konzentration der gelösten Stoffe herrschen.

Diese Bedingungen erforderten eine Reihe besonderer Maßnahmen:

1. Es mußte eine ausreichende Sauerstoffversorgung der durchströmten Gewebe gewährleistet sein; aus diesem Grund wurde die Durchströmungsflüssigkeit mit sauerstoffgesättigten Erythrocyten versetzt. Wir

prüften die Brauchbarkeit von Erythrocyten verschiedener Tierarten. Es erwies sich, daß bei der Verwendung von Kaninchen-, Rinder- und Menschenerythrocyten keinerlei Störungen unserer Versuche auftraten; dagegen beobachteten wir bei Durchströmungen mit Hammelblutkörperchen eine zunehmende Erhöhung des peripheren Widerstandes in unseren Präparaten. Dieselbe Erscheinung trat auch bei hämolytisch geschädigten Erythrocyten anderer Tierarten auf; wir vermuten deshalb, daß die Hammelerythrocyten für unsere Versuche wegen ihrer großen Hämolyseneigung nicht geeignet sind. — Spuren von Hämolyse und eine Gefäßkontraktion der Präparate beobachteten wir auch, wenn Erythrocyten verwandt wurden, die erst nach mehr als 8 Std nach ihrer Entnahme beim Spender in den Versuch genommen wurden. Dies konnte auch durch Aufbewahren des heparinisierten Vollblutes im Kühlschrank nicht vermieden werden. Dagegen zeigte sich konserviertes Blut noch nach 8—10 Tagen als voll brauchbar.

2. Unsere Versuchsanordnung durfte außer dem Tierpräparat möglichst keine Bestandteile tierischen Ursprungs enthalten. Deshalb benutzten wir zur Sauerstoffanreicherung der Erythrocyten künstliche Beatmungsrohre und als kolloidosmotisch wirksames Material Kollidon.

3. Leerversuche am gleichen Präparat hatten ein Wechseln der Durchströmungsflüssigkeit ohne Unterbrechung des Versuchs zur Voraussetzung. Diese Forderung scheint uns durch das Doppelsystem erfüllt.

4. Als leicht beschaffbares und gleichmäßiges Versuchstier schien uns die Inzuchtratte besonders geeignet. Wir arbeiteten mit unserem Stamm BAL. Sicher reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse erhielten wir jedoch erst, als wir vor der Durchströmung das Rückenmark der Tiere sorgfältig entfernten. So lange dies nicht geschah, beobachteten wir bei einem großen Teil der Präparate starke Vasoconstrictionen.

5. Die Forderung der gleichen Stoffkonzentration im arteriellen Schenkel wurde durch den offenen Kreislauf erfüllt, aus dem die Flüssigkeit nach der Passage des Präparats abfließt.

Unsere Versuchsanordnung gestattet in ihrer gegenwärtigen Form quantitative Aussagen über zwei komplexe Vorgänge im Endstromgebiet: a) Über die Gesamtmenge der aus dem Gefäßsystem in das Interstitium getretenen Flüssigkeitsmenge; diese wird durch die Gewichtszunahme des Präparates registriert. b) Über die Änderung des Gefäßtonus und damit des peripheren Widerstandes, die sich durch Änderung der Flüssigkeitsmenge kennzeichnet, die in der Zeiteinheit bei gleichem hydrostatischem Druck durch unser Präparat läuft. Die gewonnenen Werte sind Ergebnisse des Zusammenspiels mehrerer Einzelfunktionen die von Fall zu Fall Gegenstand einer eingehenderen Analyse sein müssen. Darüber hinaus eignet sich unser Präparat wegen seiner verhältnismäßig einfachen Handhabung als biologischer Test für den Nachweis und die

quantitative Bestimmung von Stoffen, die den Flüssigkeitsdurchtritt durch die Gefäßwand beeinflussen. — Zwei in unseren Durchströmungsversuchen gewonnene Diagramme sollen als Beispiel für die experimentellen Möglichkeiten unserer Methode dienen. Bei der 1. Durchströmung (Abb. 3) wurde in der 45. min die Erythrocytenkonzentration halbiert. Die Sauerstoffversorgung blieb trotzdem groß genug, um die beiden Kenngrößen „Durchlauf" und „Gewichtszunahme" nicht zu verändern. Im 2. Beispiel (Abb. 4) wurde nach 40 min der kolloidosmotische Druck

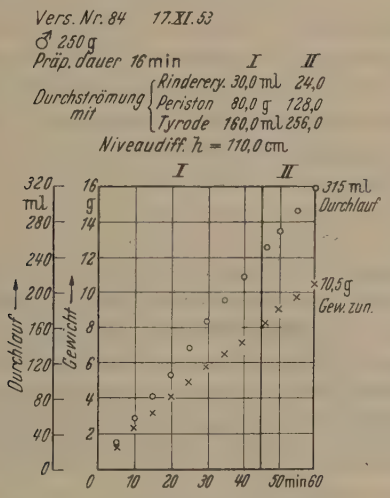


Abb. 3.

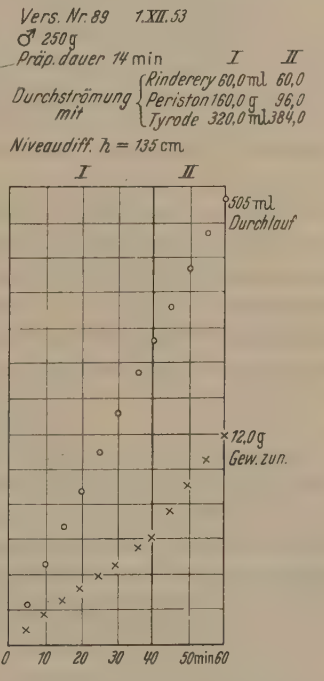


Abb. 4.

Abb. 3. Beispiel eines Durchströmungsdiagramms: Rindererythrocyten in peristonhaltiger Tyrodelösung. Bei Änderung der Erythrocytenkonzentration im Verhältnis 2:1 tritt keine Funktionsänderung der Endstrombahn ein.

Abb. 4. Durchströmungsdiagramm: Rindererythrocyten in peristonhaltiger Tyrodelösung. Bei Änderung des Kolloidosmotischen Drucks im Verhältnis 2:1 erhöht sich der Flüssigkeitsaustritt im Capillargebiet im Verhältnis 1:2.

auf die Hälfte herabgesetzt; der unveränderte Durchlauf zeigt, daß die Gesamtbilanz des Drucks keine Änderung erfahren hat, während die Gewichtszunahme die erwartete Steigerung aufweist.

Die meisten Versuche, Durchströmungspräparate von Warmblütern herzustellen, sind gescheitert, weil die Ergebnisse nicht sicher reproduzierbar waren. Dies ist einerseits darauf zurückzuführen, daß darauf verzichtet wurde, der Durchströmungsflüssigkeit Sauerstoffträger zuzusetzen, ohne die es zu einer unkontrollierbaren Herabsetzung des peripheren Widerstandes kommt. Andere Autoren setzten wohl

Erythrocyten zu, mußten aber gleichzeitig eine Hämolyse beim Durchperlen der Erythrocytensuspension mit Sauerstoff hinnehmen. Dies führt nach einiger Zeit zu einer Erhöhung des peripheren Widerstandes.

Unseres Wissens gelang es nur Pappenheimer und seiner Schule[1–3, 5], in einer Reihe sehr eindrucksvoller Untersuchungen an einem Warmblüterpräparat, nämlich der Hinterextremität von Katzen und Hunden, reproduzierbare Ergebnisse über den Flüssigkeitsaustausch im Capillargebiet zu erzielen. Zur Sauerstoffanreicherung hatten sie bei geschlossenem Kreislauf Katzen- und Hundelungen eingebaut. Ihre Anordnung ermöglicht es ihnen, die einzelnen Variablen, die entsprechend der Ludwig-Starlingschen Theorie den Flüssigkeitsaustausch beherrschen, zu variieren. So erzielten sie eine sehr bedeutsame Bestätigung der genannten Theorie.

Unsere gegenwärtige Apparatur wurde dagegen immer nur bei gleichem Anfangs- und Enddruck eingesetzt. Da unsere Versuche das Ziel haben, sichere Aussagen über Funktions*änderungen* in der Endstrombahn zu gewinnen, scheint uns für diese Zwecke eine Konstanz der Versuchsbedingungen, das gedoppelte Durchströmungsgerät mit den künstlichen Beatmungsanlagen und das offene Kreislaufsystem geeigneter. — An mehr als 120 Durchströmungen haben wir mit Hilfe der geschilderten Versuchsanordnung Erfahrungen gesammelt.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode zur Messung von Funktionsänderungen in der Endstrombahn eines Warmblütlerorganismus beschrieben. Hierbei werden Rattenhinterleiber mit einer Erythrocytensuspension durchströmt. Die Gewichtszunahme der Präparate ermöglicht Aussagen über die Flüssigkeitsbewegung durch die Capillarwand, die Menge der durchströmenden Flüssigkeit gestattet Schlüsse auf den peripheren Gesamtwiderstand.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung unserer Untersuchung.

Nachtrag bei der Korrektur: In der Zwischenzeit ist in den Helvet. physiol. Acta **12**, C 58 (1954) ein Bericht von Wilbrandt, W., Schmutziger, P., Baltzer, A. u. Wüthrich, H. (Bern) über eine „Demonstration eines Films über eine Registriermethode zum Studium der Kapillarpermeabilität" erschienen. Es handelt sich um eine Weiterentwicklung der Pappenheimerschen Methode mit einer Selbststeuerung der Anordnung auf Isogravimetrie.

Literatur.

[1] Pappenheimer, J. R., and A. Soto-Rivera: Amer. J. Physiol. **152**, 471 (1948). — [2] Pappenheimer, J. R., E. M. Renkin and L. M. Borrero: Amer. J. Physiol. **167**, 13 (1951). — [3] Pappenheimer, J. R.: Physiological Rev. **33**, 387 (1953). — [4] Reissmann, K. R.: Blood **5**, 372 (1950). — [5] Renkin, E. M.: Amer. J. Physiol. **168**, 538 (1952). — [6] Ruhenstroth-Bauer, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 32 (1950). — [7] Ruhenstroth-Bauer, G., u. H. Teipel: Z. ges. exper. Med. **118**, 290 (1952). — [8] Ruhenstroth-Bauer, G.: Steuerung der Erythrocytenkonzentration im Blut. Hdb. der Hämatol. Bd. II (in Vorbereitung). — [9] Melsung. med.-pharm. Mitt. (Braun) 15 (1952).

Dr. G. Ruhenstroth-Bauer, Tübingen, Max-Planck-Institut f. Biochemie.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 293—302 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. B. Behrens).

Zur K^+-Ca^{++}-Wirkung auf die Erregungsleitung im Herzmuskel des Frosches*.

Von
Hans-Friedrich Benthe**.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Dezember 1954.)

Von den körpereigenen Mineralien entfaltet das Kalium eine besondere Wirkung auf das Herz. Es werden davon sämtliche Funktionen betroffen, am stärksten jedoch die mit der elektrischen Erregbarkeit zusammenhängenden. Der Wirkungscharakter ist deutlich zweiphasisch: niedere Konzentrationen fördern, höhere hemmen. Dabei ist es gleich, ob das Kalium dem Gesamtorganismus bzw. dem isolierten Herzen vom Lumen aus zugeführt wird, oder ob es durch die Verletzung der Herzmuskelzellen aus diesen selbst freigesetzt wird; die Intracellularkonzentration liegt schließlich 30mal höher als die extracelluläre.

Rothschuh (1952) hat am Froschherzstreifen den durch Verletzung erzeugten Kaliumaustritt chemisch nachgewiesen. Entsprechendes ist für das Warmblüterherz histochemisch nachgewiesen (Schulze und Zschau 1935). Ebenso sind Infarktbezirke Austrittstellen des muskeleigenen Kaliums. Im Serum des aus diesen Gebieten abfließenden Blutes steigt der Kaliumgehalt um 50% (Dennis u. Moore 1938), so daß im intakten Nachbargewebe typische Kaliumreaktionen ausgelöst werden; dazu gehören: erhöhte Erregbarkeit, beschleunigte Erregungsleitung und heterotope Reizbildung. Gleichartige Effekte sind durch Kaliumsensibilisierung zu erwarten; in dieser Richtung sind zahlreiche Substanzen wirksam; speziell für die dromotrope Wirkung des Coffeins wurde es in einer vorangehenden Arbeit nachgewiesen (Benthe 1954).

Angesichts dieser Entstehungsmöglichkeiten von Kaliumwirkungen am Herzen ist die Kenntnis ihrer antagonistischen Beeinflussung von Bedeutung. Dem physiologischen Antagonismus entsprechend erweist sich das Calcium als besonders wirksam. Die experimentelle Klärung des Ionenantagonismus erfolgte bisher am natürlich oder künstlich durchströmten Froschherzen.

Nach Boehms (1914) Untersuchungen am isolierten Froschherzen ist von allen Herzteilen der Ventrikel besonders empfindlich gegenüber Calcium und Kalium. Mäßiger Erhöhung der Calciumkonzentration folgt Frequenzabnahme und Hubzunahme. Bei gleichzeitiger Vermehrung von Calcium und Kalium kompensieren

* Ausgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.
** Meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. B. Behrens, zum 60. Geburtstag.

sich die Wirkungen beider Ionen weitgehend, bei 140 mg-% $CaCl_2$ jedoch tritt unabhängig vom Kaliumgehalt die Calciumwirkung in den Vordergrund, es kommt zur Tonussteigerung und schließlich zum systolischen Stillstand. Den Einfluß von Calcium und Kalium auf die Herzreizbildung untersuchte Kisch (1926), er fand für mäßig erhöhte Calciumkonzentration eine Verlangsamung, die bei weiterer Erhöhung in Beschleunigung übergeht.

Über Veränderungen des EKG unter K^+-Ca^{++}-Einfluß liegen zahlreiche Arbeiten mit zum Teil widersprechenden Ergebnissen vor. In einer neueren Arbeit beschreibt Rodeck (1947) die Änderungen des Aktionsstromes (AS) vom isolierten Froschherzen bei verschiedenem K^+-Ca^{++}-Gehalt. Wenig erhöhte Ca-Konzentrationen ($CaCl_2$ <80 mg%) führen stets zu einer Verlängerung des Aktionsstromes, aus der parallelgehenden Verbreiterung der T-Zacke wird auf eine verzögerte Erregungsleitung im Ventrikel geschlossen. Die reversiblen Erscheinungen sind im Sinne der Membrantheorie auf Permeabilitätsabnahme zurückzuführen. Demgegenüber ist die langsamer einsetzende irreversible Verkürzung des AS bei weiterer Ca-Steigerung mit Plasmaschädigungen der Membran verknüpft. Dem entsprechen die zitierten Befunde von Boehm und Kisch, wonach sich der toxische Calciumeinfluß auch durch beträchtliche Kaliumsteigerung nicht kompensieren läßt. Weiterhin berichtet Rodeck (1948) über den *Ionenantagonismus* am isolierten Froschherzen, bei welchem Frequenz und Aktionsstrom beobachtet werden. Nach seinen Befunden ist die Existenz eines echten Ca-K-Antagonismus zweifelhaft, zumal sich für große Konzentrationsbereiche eine synergistische Beziehung beider Ionen ergab.

Da infolge der stark variierenden Wirkungskriterien in den bisherigen Arbeiten exakte Angaben über den Ca-K-Antagonismus und den „ionalen" Wirkwert des Calciums und Kaliums nicht gewonnen wurden, erschien es angebracht, durch direkte Messung der Leitungsgeschwindigkeit der Erregung die Ca-K-Wirkung in quantitativer Hinsicht zu untersuchen. Gleichzeitig sollte der Bereich gegenseitiger Kompensation beider Ionen ermittelt werden.

Methode.

Die Messung der Erregungsleitungsgeschwindigkeit erfolgte nach einem von Bammer und Rothschuh (1952) angegebenen Verfahren, wobei aus dem Ventrikel des Froschherzens in spiraliger Schnittführung ein 3—4 cm langer Streifen hergestellt wird, dessen Leitungszeit dann gemessen wird. Über weitere Einzelheiten der Methode ist bereits in einer vorangehenden Arbeit berichtet (Benthe 1954). Die normale Ringer-Lösung, in der die Streifen aufbewahrt wurden, hatte folgende Zusammensetzung: 100 H_2O, 0,6 NaCl, 0,021 KCl, 0,021 $CaCl_2$, 0,03 $NaHCO_3$. Die Versuche wurden ausgeführt in den Monaten Mai—Oktober an frisch gefangenen Temporarien; die Aufbewahrung der Tiere erfolgte im Freiluftbecken.

Zunächst wurde die Änderung (Δv) der Leitungsgeschwindigkeit (LG) unter Kalium- und Calcium-Vermehrung bzw. -Verminderung bestimmt, wobei jeweils die K^+- und Ca^{++}-Einzelwirkungen in verschiedenen Versuchsreihen getrennt voneinander ermittelt wurden. Als Ausgangswert der LG wurde der in der Aufbewahrungslösung bestimmte gewählt, er betrug im Durchschnitt 7—10 cm/sec. Anschließend erfolgte die Änderung des Ca-K-Spiegels und laufende Messungen der LG. Zur Auswertung wurde der nach 15 min Einwirkungszeit ermittelte Wert genommen, da sich herausstellte, daß sich innerhalb dieser Zeit die LG auf den jeweils für die Lösung charakteristischen Wert eingestellt hatte. Die gewählten Ionenänderungen sind in Tab. 1 und 2 verzeichnet.

Um unspezifische Reaktionen infolge der Änderung des osmotischen Wertes zu übersehen, wurde die NaCl-Konzentration um ± 15 mM variiert. Dies hatte keinen Einfluß auf die LG, die darüber hinaus gegen NaCl-Änderungen sehr unempfindlich ist.

Ergebnisse.

1. Änderung der Kaliumkonzentration.

Die Kaliumvermehrung bzw. -verminderung erfolgte in zwei getrennten Versuchsreihen nach den angegebenen Stufen; die damit verbundene Änderung der LG ist ebenfalls in Tab. 1 wiedergegeben.

Tabelle 1. *Änderung der LG (cm/sec) bei Änderung der K^+-Konzentration, angegeben in mg-%, bezogen auf 11,1 mg-% K^+ der Ausgangs-*Ringer*-Lösung.*

K-Vermehrung um mg-%	LG-Änderung cm/sec	K-Verminderung um mg-%	LG-Änderung cm/sec
2,6	+ 0,34	3,2	— 0,65 ± 0,16
4,7	+ 0,60 ± 0,22	5,8	— 1,5 ± 0,10
11,0	+ 1,07 ± 0,20	8,3	— 2,0 ± 0,13
15,2	+ 1,40 ± 0,25		
20,0	+ 0,17 ± 0,19		
25,7	— 1,5 ± 0,16		

Die obere und untere Grenze der Konzentrationsänderungen begrenzt zugleich den gesamten Leitfähigkeitsbereich; sowohl nach Erhöhung um 25,7 mg-% K = 70 mg-% KCl-Endkonzentration, als auch nach Erniedrigung um 8,3 mg-% K = 5 mg-% KCl-Endkonzentration erlischt nach ungefähr 20 min die Leitfähigkeit.

2. Änderung der Calciumkonzentration.

In entsprechender Weise ergab die Änderung der Ca-Konzentration die in Tab. 2 angegebenen Werte.

Tabelle 2. *Änderung der LG (cm/sec) bei Änderung der Ca^{++}-Konzentration, angegeben in mg-% Ca^{++}, bezogen auf 7,6 mg-% Ca^{++} der Ausgangslösung.*

Ca-Vermehrung um mg-%	LG-Änderung cm/sec	Ca-Verminderung um mg-%	LG-Änderung cm/sec
4,3	— 0,6	1,9	+ 0,5
8,7	— 1,36 ± 0,33	3,8	+ 0,96 ± 0,16
13,0	— 2,04 ± 0,41	7,6	+ 2,34 ± 0,16
17,4	— 2,68 ± 0,40		
21,7	— 3,22 ± 0,41		
34,8	— 4,33 ± 0,50		

Das Ergebnis ist in Abb. 1 dargestellt, wo die Änderung der LG (Ordinate) in Abhängigkeit vom dekadischen Logarithmus der Ionen-Konzentrationsänderungen (Abszisse) angegeben ist. Wie zu erwarten, führt Ca^{++}-Verminderung zu einer Erhöhung der LG, während Ca^{++}-Vermehrung die LG senkt. Ebenso nimmt die LG bei Verminderung des

K^+-Gehaltes ab, während eine Steigerung des K^+-Gehaltes zweiphasisch wirkt: bei einer Vermehrung um 15,2 mg-% = 50 mg-% KCl-Endkonzentration schlägt die bis dahin ansteigende LG in einen steilen Abfall um, bis die Leitfähigkeit bei weiterer Vermehrung bis auf 70 mg-% KCl-Endkonzentration nach ungefähr 20 min erlischt. Abgesehen von niedrigen Konzentrationsänderungen in der Umgebung der Ausgangskonzentrationen besteht für beide Ionen ein annähernd logarithmisches Dosiswirkungsverhältnis. Es erhebt sich nun die Frage, ob sich die Wirkung einer Ca^{++}-Verminderung als K^+-Wirkung identifizieren läßt. Zu diesem Zweck sind in beiden Kurven die Punkte, in denen das Verhältnis der Endkonzentration $\frac{Ca^{++}}{K^+}$ gleich ist, miteinander verbunden. Bis zu einer K^+-Endkonzentration von 22 mg-% (P_1) laufen diese Verbindungslinien annähernd parallel zur Abszisse, d. h. in diesem Bereich ist Ca^{++}-Entzug mit der dann überwiegenden K^+-Wirkung zu erklären und umgekehrt. Oberhalb der genannten K^+-Konzentration gilt diese Beziehung nicht mehr. Wie Abb. 2 zeigt, ist auch der zeitliche Verlauf der LG-Änderung bei einer K^+-Vermehrung um 15,2 mg-% (P_2 in Abb. 1) und einer entsprechenden Ca^{++}-Verminderung trotz gleichen $\frac{K^+}{Ca^{++}}$-Verhältnisses verschieden. Ferner ergibt sich ein wesentlicher Unterschied in der Reaktionsbreite der LG: Mit den möglichen Änderungen des K^+-Spiegels schwankt die LG zwischen +1,4 und —2 cm/sec. Demgegenüber liegen bei Veränderung des Ca^{++}-Spiegels die Grenzen der LG bei +2,4 und —4,3 cm/sec. Obwohl es

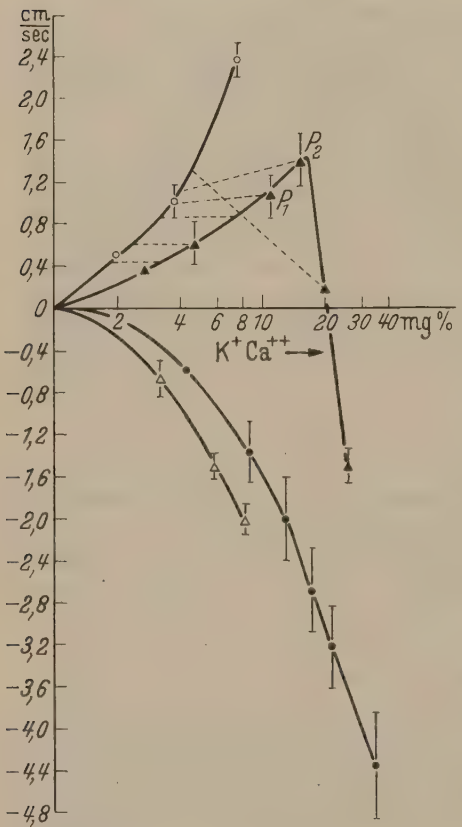


Abb. 1. Verhalten der LG (cm/sec) bei Änderung der K-Ca-Konzentration (mg-%) der Ausgangs-RINGER-Lösung (Abszisse) o———o Ca-Verminderung; •——• Ca-Vermehrung; △——△ K-Verminderung; ▲——▲ K-Vermehrung.

also leitungsmäßig durchaus möglich ist, den Erregungsablauf ungefähr zwischen + 2,5 und —4,5 cm/sec zu variieren, läßt sich mit Hilfe der K^+-Veränderung nur ein Bereich von ungefähr ± 1,5 cm/sec aussteuern; jenseits dieser Grenzen ist die Erregungsleitung blockiert. Dieser Befund entspricht der spezifischen Funktion des Kaliums bei der Erregungsleitung.

3. Prüfung des Ca-K-Antagonismus.

a) Kompensation positiv dromotrop-wirkender K^+-Konzentrationen durch Ca^{++}.

Neben der Klärung der Einzelwirkungen ist die Frage der gegenseitigen Kompensationsmöglichkeit beider Ionenarten von Bedeutung; hier interessiert unter den eingangs dargelegten Gesichtspunkten besonders die antagonistische Beeinflussung zunehmender K-Konzentration. Es war zu prüfen, ob sich die resultierende Wirkung einer K^+-Ca^{++}-Kombination aus den ermittelten Komponenten der Einzelwirkung auch in quantitativer Hinsicht zusammensetzt. Zu diesem Zweck wurden zu den Punkten gleicher positiver und negativer LG-Änderungen die entsprechenden Ionenkonzentrationen aufgetragen (Abb. 3). Auf der erhaltenen Kurve wählten wir willkürlich 3 Punkte (x), die zugehörigen K^+-Konzentrationen liegen noch unterhalb des Umschlagpunktes der LG, haben also noch einen eindeutig positiv dromotropen Einfluß. Im einzelnen verfuhren wir derart, daß die Herzstreifen nach Erreichung eines konstanten Leitungswertes in der Ausgangs-RINGER-Lösung der erhöhten K^+-Konzentration ausgesetzt wurden, nach 15 min Auswaschen mit der Ausgangslösung und anschließend Wiederholung der gleichen K^+-Erhöhung erfolgte zusätzlich der aus der Kurve (Abb. 3) abgelesenen Ca^{++}-Konzentration. Die nach 15 min gewonnenen Werte der LG sind in Tab. 3 angegeben.

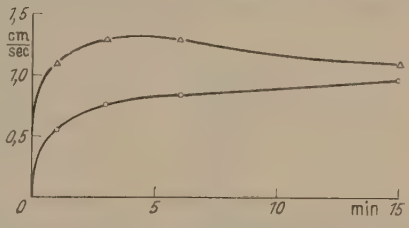


Abb. 2. Zeitlicher Verlauf der LG-Zunahme bei Zusatz von 15,2 mg-% K- △ △ und Entzug von 4,4 mg-% Ca ○ ○.

Das Ergebnis zeigt, daß sich die Einzelwirkung der K^+ und Ca^{++} bei gleichzeitigem Einfluß gegenseitig aufheben. Die Kurve der Abb. 3 gibt also das Konzentrationsverhältnis an, bei dessen Einhaltung der Einfluß einer Ca^{++}-K^+-Mischlösung wirkungslos ist. Aus der Tatsache, daß diese Kurve keine Gerade ist, geht schon hervor, daß das Verhältnis beider Ionen in dem angeführten Konzentrationsbereich nicht konstant ist.

Tabelle 3. *Änderung der LG (cm/sec) in K^+-Ca^{++}-Mischlösungen. Angabe der Zusätze in mg% der Ionen-Konzentration und der Neutralsalze.*

Mischlösung (Zusätze in mg-%) K^+ KCl	Ca^{++} $CaCl_2$	LG-Änderung v in cm/sec
4,0	4,0	
7,5	11,0	± 0 $\pm 0{,}17$
8,0	5,8	
15,0	16,0	$-0{,}03$ $\pm 0{,}14$
12,5	7,5	
24,0	21,0	$-0{,}03$ $\pm 0{,}15$

Das $\frac{Ca^{++}}{K^+}$ Verhältnis des Ionen*zusatzes* zur Ausgangslösung ist, abgesehen von niedrigen Konzentrationsbereichen stets kleiner als 1. Würde man für die Ionenvermehrung demnach den Ca-K-Quotienten gleich 1

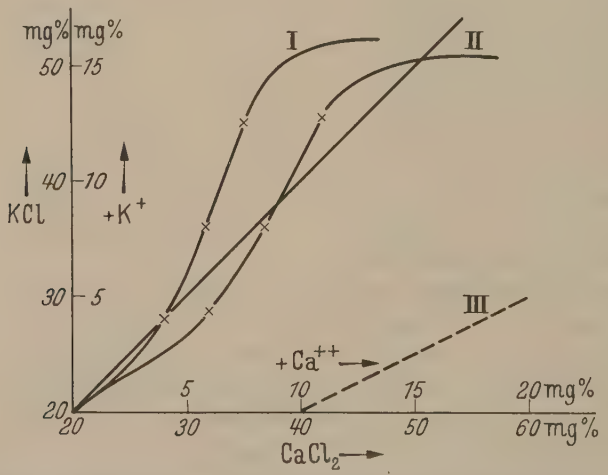


Abb. 3. Verhältnis der Kalium-Calcium-Konzentrationen bei denen sich die Ionenwirkungen kompensieren. Kurve I: Verhältnis der Ionenzusätze (mg-%). Kurve II: Verhältnis der Neutralsalzendkonzentrationen (mg-%). Kurve III: Verhältnis von $\frac{CaCl_2}{KCl} = 2$.

halten, so würde der Einfluß des Ca dominieren und zu einem negativ dromotropen Effekt führen.

Der Schnittpunkt der Kurve in Abb. 3 mit der Winkelhalbierenden verschiebt sich begreiflicherweise, wenn man die Ionen*endkonzentrationen* mit den Gewichten ihrer Neutralsalze angibt. Wir bringen diese Ergänzungskurve (II in Abb. 3), weil auch in den wenigen neueren Arbeiten leider aus beobachteten Neutralsalzwirkungen auch quantitativ auf den Ionenantagonismus geschlossen wird. So erhöht Rodeck (1948) den Ca-K-Spiegel unter Konstanthaltung des Quotienten $\frac{CaCl_2}{KCl} = 2$

und beobachtet eine Verkürzung des AS und folgert eine Prävalenz des Kaliums in der kombinierten Wirkung beider Ionen. Dieser Befund steht im Widerspruch zu den Angaben Boehms (1914), der in chronotropen und inotropen Wirkungen einer Ca-K-Erhöhung den Ca-Einfluß als dominant ansieht. Die dromotropen Reaktionen kompensieren sich, wenn das Verhältnis der beiden Salze der Kurve in Abb. 3 entspricht. Daraus ergibt sich näherungsweise für $\frac{CaCl_2}{KCl} = 1$, in niederen Konzentrationsbereichen (< 38 mg-% $CaCl_2$) der Quotient größer als 1 (max 1,13), in höheren (bis 50 mg-% $CaCl_2$) ist er kleiner als 1 (min 0,92). Vergleichsweise ist auch das von Rodeck gewählte Salzverhältnis $\frac{CaCl_2}{KCl} = 2$ eingetragen (III in Abb. 3). Man erkennt ohne weiteres, daß hinsichtlich der Erregungsleitung dieses Mischungsverhältnis weit außerhalb des Kompensationsbereichs liegt und die stark negativ dromotropen Eigenschaften des Calciums in Erscheinung treten lassen würde.

Aus den beschriebenen Befunden geht klar hervor, daß ein echter Ionenantagonismus vorliegt, in dem sich Wirkungen des einen Ions durch das andere völlig kompensieren lassen. Die Inkonstanz des Verhältnisses beider Ionenarten bei steigender Konzentration widerspricht keineswegs dem Prinzip eines echten Antagonismus.

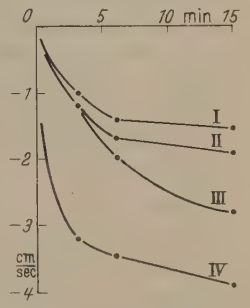


Abb. 4. Verhalten der LG in 70 mg-% KCl mit und ohne $CaCl_2$-Zusatz.
I: 70 mg-% KCl;
II: 70 mg-% KCl + 6—24 mg-% $CaCl_2$
III: 70 mg-% KCl + 48 mg-% $CaCl_2$;
IV: 70 mg-% KCl + 72 mg-% $CaCl_2$.

b) Kompensation negativ dromotrop wirkender Kalium-Konzentrationen durch Calcium.

Der in den bisherigen Befunden bestätigte K-Ca-Antagonismus entspricht den allgemeinen Vorstellungen der Membrantheorie, wonach Ca durch seine membrandichtende Eigenschaft den mit Depolarisation verbundenen Kaliumeffekten entgegenwirkt. In einer weiteren Versuchsreihe sollte daher geprüft werden, ob auch gegenüber höheren, negativ dromotrop wirkenden Kalium-Konzentrationen Calcium antagonistisch wirksam ist.

Zu diesem Zweck beobachteten wir die LG-Abnahme in einer Ringer-Lösung mit 70 mg-% KCl-Endkonzentration, darauf erfolgte Auswaschen mit Normal-Ringer, in der die LG auf den Ausgangswert ging und anschließend erneute Einwirkung der hohen KCl-Konzentration mit verschiedenen $CaCl_2$-Zusätzen.

Das Ergebnis ist in Abb. 4 dargestellt: die negativ dromotrope Kaliumwirkung wird durch $CaCl_2$ Zusätze um 6—72 mg-% nicht abgeschwächt, sondern verstärkt. Hier liegt kein antagonistisches Wirkungsverhältnis vor, sondern der resultierende Effekt entspricht qualitativ einer Addition der Einzelwirkungen. Es ist hervorzuheben, daß sämtliche Alterationen reversibel waren, so daß Plasmaschädigungen, die auch von anderen

Untersuchern (Rodeck 1947) nicht beobachtet wurden, mit dem beschriebenen K-Ca-Synergismus nicht ursächlich zusammenhängen können.

Besprechung der Ergebnisse.

Schon die Veränderungen des Aktionsstroms vom Gesamtherzen bei Ca-Erhöhung hat Rodeck (1947) im Sinne einer Verzögerung des Erregungsablaufs gedeutet, diese Annahme können wir nach direkter Messung der LG bestätigen. Demgegenüber bestehen zu analogen Befunden am Säugetierherzen nicht derart eindeutige Beziehungen.

Nach Garb (1951) erzeugt Calcium am Papillarmuskel eine T-Umkehr, die jedoch Folge der primären Stoffwechselsteigerung sein soll. Hinsichtlich der Frequenz des Gesamtherzens sind die Ergebnisse nicht einheitlich, neben der überwiegend beobachteten Frequenzabnahme (Harris u. Levin 1937, v. Dungern u. Funder 1939) fanden Hoff u. Mitarb. (1939) eine Frequenzerhöhung hier steht offenbar die Kreislauf- und Stoffwechselwirkung des Calciums im Vordergrund.

Calciummangel ist stets mit gesteigerter Erregbarkeit verbunden. Am Papillarmuskel verkürzt sich der R-T-Abstand (Garb 1951), in unseren Versuchen steigt die LG mit abnehmendem Ca-Gehalt der Ringer-Lösung. Die maximale Erhöhung um 2,4 cm/sec wird in völlig Ca-freier Lösung erreicht. Die LG-Zunahme bei stufenweiser Reduzierung des Calciums bis auf 50% seines Normalwertes kann als Kaliumeffekt erklärt werden, bei weiterer Senkung des Ca-Spiegels scheint dagegen eine echte Ca-Entzugswirkung vorzuliegen. Dieser Annahme entspricht auch die Tatsache, daß die in Ca-freier Lösung beobachtete LG-Zunahme fast doppelt so hoch ist, wie die durch Kaliumzusatz überhaupt mögliche. Es ist hervorzuheben, daß dieser hohe Leitungswert auch noch nach 20 bis 30 min erhalten bleibt. Bei Deutung der spezifischen Ca-Entzugswirkung kann an die hypothetische Ca-Trägerverbindung gedacht werden, die den Natriumeinstrom während der Erregung ermöglicht (Fatt u. Katz 1952). Eine geringe Ca-Konzentration würde die Abdissoziation des lipoidlöslichen Trägermoleküls begünstigen.

Während gleichsinnige Ca-Veränderungen stets einphasisch die LG beeinflussen, wirkt K-Zusatz zunächst positiv, dann negativ dromotrop (Bammer u. Rotschuh 1952). Da zwischen Geschwindigkeitszunahme und dem dekadischen Logarithmus des K-Zusatzes eine lineare Beziehung besteht, ist die schon in anderem Zusammenhang diskutierte ursächliche Verknüpfung mit dem Membranpotential wahrscheinlich (Benthe 1954). Wie aus vergleichenden Untersuchungen hervorgeht, erhöhen die positiv dromotrop wirkenden K-Konzentrationen zugleich die Erregbarkeit. Diesem Bereich entsprechen daher die am Gesamtherzen beobachtete Anregung tertiärer Zentren und heterotope Reizbildung, deren gemeinsame Grundlage eine gesteigerte Erregbarkeit des Myokards ist. Auf den möglichen Kausalzusammenhang mit der Freisetzung herzmuskeleigenen

Kaliums wurde bereits eingangs hingewiesen. In dieser Phase erweist sich Calcium als echter Kaliumantagonist hinsichtlich der untersuchten Leitungsänderungen. Dabei ist das erforderliche Verhältnis der Endkonzentrationen beider Salze nicht konstant, sondern es ist bei 38 mg-% KCl = 1 und unter- bzw. überschreitet diesen Wert in nichtlinearer Abhängigkeit von positiven bzw. negativen KCl-Verschiebungen. Auch für die Refraktärzeit und den Aktionsstrom des Froschherzens ist von Lueken u. Schütz (1938) ein klarer Antagonismus nachgewiesen. Am Säugetierherzen, das mit Aconitin vorbehandelt ist, gelingt es, durch KCl ausgelöste Extrasystolen mit $CaCl_2$ zu verhindern (Göing u. Lendle 1954). Die negativ dromotrope Wirkung von 70 mg-% KCl wird hingegen durch Calcium verstärkt. Somit liegt ein klarer K-Ca-Synergismus vor.

Die Existenz eines K-Ca-Antagonismus ist gemäß der an zahlreichen Objekten nachgewiesenen Membranwirkung dieser Ionen zu erwarten. Die Wirkungslosigkeit des Calciums gegenüber den depressiven Kaliumeffekten ist damit jedoch nicht zu erklären. Auch die größere extrazelluläre Diffusionsgeschwindigkeit des Kaliums von der Oberfläche in das Innere des Gewebes, auf der offenbar die zeitlichen Wirkungsunterschiede beruhen, erklärt nicht den gleichsinnigen Einfluß auf die Erregungsleitung. Denn dann wäre höchstens eine Prävalenz des Kaliums zu erwarten, aber keine Verstärkung durch Calcium. Schließlich darf bei Hinweis auf Diffusionsunterschiede nicht übersehen werden, daß auch nicht ionisiertes Calcium typische Calciumwirkungen hervorrufen kann (Heubner 1919, 1931). Daher ist schon aus diesem Grunde das bekannte physiologische Wirkungsbild nicht restlos mit der Annahme eines Ionenantagonismus zu erklären. Auch aus unseren Befunden ergibt sich, daß hinsichtlich der Membranwirkung, von der letztlich die Erregungsleitungsgeschwindigkeit abhängig ist, kein uneingeschränkter Calcium-Kalium-Antagonismus besteht. Das einfache Schema von Permeabilitätszunahme oder -abnahme genügt hier also nicht, sondern es sind für die negativ dromotrop wirkenden höheren Kaliumdosen und für Calcium getrennte Angriffspunkte anzunehmen.

Zusammenfassung.

Es wurde die Änderung der Erregungsleitungsgeschwindigkeit des Froschherzmuskels bestimmt bei Verschiebung des K-Ca-Spiegels der Normal-Ringer-Lösung:

Ca-Vermehrung ist stets mit Abnahme der Leitungsgeschwindigkeit verbunden, Ca-Verminderung mit Zunahme, die in Ca-freier Lösung ihren Maximalwert erreicht.

K-Verminderung verzögert den Erregungsablauf, während K-Vermehrung zunächst positiv, dann negativ dromotrop wirkt. Die

antagonistische Beeinflussung durch Calcium ist nur in der positiv dromotropen K-Phase möglich, während die negativ dromotropen K-Effekte durch Ca nur noch verstärkt werden.

Literatur.

Bammer, H., u. K. E. Rothschuh: Z. exper. Med. **119**, 402 (1952) und Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 367 (1952). — Benthe, H. F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 285 (1954). — Boehm, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **75**, 230 (1914). — Dennis, J., and R. M. Moore: Amer. J. Physiol. **123**, 443 (1938). — Dungern, M. v., u. H. J. Funder: Z. exper. Med. **106**, 433 (1939). — Fatt, P., and B. Katz: Harbor Symp. on quant. Biol. **17**, 275 (1952). — Garb, S.: J. Pharmakol. a. Exper. Ther. **101**, 317 (1951). — Göing, H., u. L. Lendle: (1954 im Druck). — Harris, J., and D. A. Levin: J. of Physiol. **81**, 153 (1937). — Heubner, W.: Biochem. Z. **93**, 225 (1919) u. Bethes Handb. XVI, 2, 1449ff. Berlin 1931. — Hoff, H. E., P. K. Smith and A. W. Winkler: Amer. J. Physiol. **125**, 162 (1939). — Kisch, B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **117**, 31 (1926). — Lueken, B., u. E. Schütz: Z. Biol. **99**, 186 (1938). — Rodeck, H.: Pflügers Arch. **249**, 470 (1947) und **250**, 91 (1948). — Rotschuh, K. E.: Elektrophysiologie des Herzens, Darmstadt 1952. — Schulze, W. u. H. Zschau: Frankf. Z. Path. **48**, 51 (1935).

Dr. Hans-Friedrich Benthe, Kiel, Pharmakologisches Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 303—308 (1955).

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering AG, Berlin-West.

1-Phenyl-propanol als Cholereticum.

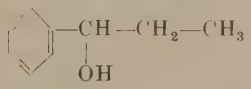
Von

H. Langecker, A. Harwart und K. Junkmann.

(Eingegangen am 1. Dezember 1954.)

Aus einer großen Zahl homologer Aryl-Alkanole wurde unter Berücksichtigung von Zugänglichkeit, Verträglichkeit und Wirksamkeit 1-Phenyl-propanol[1] ausgewählt und als choleretisch wirksam einer eingehenden Untersuchung zugeführt.

Eigenschaften.



1-Phenyl-propanol (I) $C_9H_{12}O$, MolGew.: 136 ist ein farbloses Öl von schwach esterartigem Geruch, süßlichem, leicht brennendem Geschmack. $K_{p_{15}} = 105$ bis 107° C, $K_{p_{760}} = 219$–220° ohne Zersetzung. I ist gegen verdünnte Säuren stabil, ebenso gegen verdünnte Laugen. Im Dunkeln ist I wenig oxydationsempfindlich. Bei starker Belichtung unterliegt es in Gegenwart von Sauerstoff einer Oxydation zum entsprechenden Propiophenon.

Bei Zimmertemperatur gesättigte wäßrige Lösungen enthalten 0,6%, Tyrodelösung 0,4% (Vol./Vol.), 20%iges Propylenglykol löst 2,0%. Mit Methanol, Aethanol, Benzol und Olivenöl ist I in jedem Verhältnis mischbar.

Spez. Gewicht = 0,992—0,993, Oberflächenspannung = 34,1 dyn cm^{-1}, $n_D^{23} = 1{,}5169$, Molrefraktion = 41,99 cm^3 (theor. Wert = 41,51). UV-Spektrum:

$\lambda_1 = < 210$ mμ; (in Methanol),
$\lambda_2 = 250$ mμ; $\varepsilon_2 = 173$.
$\lambda_3 = 260$ mμ; $\varepsilon_3 = 114$.

Pharmakologische Wirkungen.

LD 50 in g/kg (in Gummisuspension) Ratte per os 1.5, subcutan 0,75, i.v. (in Propylenglykol) 0,275. Die Tiere sterben unter Lähmungserscheinungen. Die histologische Untersuchung von Rattenorganen nach einmaliger Fütterung von 1,0 g/kg ergab bei Tötung nach 5 Std eine normale Leber, in der Niere trübe Schwellung der Epithelien der Tubuli contorti und körnige Massen im Lumen; nach 36 Std einen ähnlichen Befund in der Niere. Die Leberzellen waren granuliert und zeigten stellenweise mäßige Kernfärbung. Eine nach 6 Tagen verstorbene Ratte

[1] Die Substanz wurde von Herrn Dr. H. Pfeiffer (Hauptlaboratorium der Schering AG) synthetisiert.

zeigte in der blutreichen Leber schwache Kernfärbung, in der Niere mäßige Schwellung der Epithelien der gewundenen Harnkanälchen und Hyperämie.

Chronische Verträglichkeit. 18 Ratten mit einem Anfangsgewicht von 95—100 g erhielten 217 Tage lang 100 mg/kg in 10%iger Suspension täglich außer Sonntag per os. Die Tiere erreichten ein durchschnittliches Endgewicht von 203 g.

Das Blutbild zeigte nach 3 Monaten und beim Abschluß des Versuches keine Besonderheiten. Die histologische Untersuchung von Leber und Nieren an 2 Tieren bot normale Befunde.

An Katzen in Pernocton-Narkose trat nach 12 mg/kg i.v. in Tyrode gelöst, geringe Blutdrucksenkung und Abnahme der Atemamplitude ein. Am isolierten Kaninchenohr bewirkten Konzentrationen von 10^{-3} Gefäßerweiterung. Am Straubherzen kam es bei Konzentrationen von 5 mal 10^{-4} zur Abnahme der Hubhöhe, bei Konzentrationen von 10^{-3} bei 2 von 5 Herzen zu diastolischem Stillstand. Am Kaninchendünndarm bewirkten Konzentrationen von 2,5 mal 10^{-5} Verkleinerung der Amplituden und Tonussenkung, 2 mal 10^{-4} verursachte fast völlige Hemmung. Am Meerschweinchen-Dünndarm hatten Konzentrationen von 5 mal 10^{-5} Tonussenkung und Hemmung der Eigenrhythmik zur Folge. Der durch Barium am Meerschweinchen-Dünndarm ausgelöste Spasmus konnte durch Konzentrationen von 5 mal 10^{-5} unterdrückt werden, der durch Carbaminoylcholin oder Histamin verursachte durch 2 mal 10^{-4}. Die Eigenrhythmik des Kaninchenuterus wurde in Konzentrationen von 5 mal 10^{-6} aufgehoben und die Adrenalinwirkung an diesem Organ durch Konzentrationen von 2,5 mal 10^{-5} unterdrückt. Am Hund in Chloralose-Urethan-Morphin-Narkose bewirkten 6—10 mg/kg i.v. eine geringe Zunahme des Sphincter-Oddi-Durchflusses.

Die choleretische Wirkung wurde in Versuchen mit akuter Choledochusfistel an der Ratte nach peroraler, am Hund (nach Abbinden des Ductus cysticus) nach peroraler, intraduodenaler und i.m. Verabreichung geprüft. Als Kriterium der Wirkung diente die Steigerung des Gallenflusses gegenüber einer einstündigen Vorperiode. Der Stundenwert der Sekretion der Vorperiode wurde 100% gleichgesetzt.

Bei der Ratte stieg nach peroraler Verabreichung die Gallensekretion nach einer halben Stunde an, um nach 60 min langsam wieder abzufallen. Die Ausgangswerte wurden erst nach 4 Std wieder erreicht. — Beim Hund setzte nach peroraler Verabreichung die Sekretionssteigerung bereits nach 10 min ein und erreichte nach 1—2 Std den Höhepunkt. Die Rückkehr zum Ausgangswert erfolgte nach 3—5 Std und mehr. Bei Verabreichung von 12,5—25 mg/kg durch eine liegende Duodenalsonde trat die Wirkung rascher ein, erreichte nach 20—30 min den Höhepunkt und klang innerhalb weiterer 30—40 min ab. Nach i.m. Verabreichung

Tabelle 1. *Toxicität und Choleresе nach 1, p-Tolylmethylcarbinol, dem als Kampfer-*

Verabreichungsart:	LD 50 Ratte mg/kg			Dosis mg/kg	Zunahme des Gallenflusses in Prozenten des Ausgangswertes ( ) Zahl der Einzelversuche						
					Ratte		Hund				
	per os	subc.	i.v.		per os	i.v.	per os	i.d.	i.m.	i.v.	
l-Phenylpropanol	1500	750	275	12,5				117 (1)			
			in Propylen-	25,0	124 (6)		215 (2)	158 (1)		207 (1)	in Propylenglykol
			glykol							289 (3)	als Emulsion mit
											0,5% Tween
				100,0	192 (4)		193 (9)		146 (1)		
				200,0					122 (1)		
p-Tolylmethyl carbinol . . .	> 1000		305	10,0						461	Kampfersre.[2]
			in Propylen-							125	Phthalsre.[2]
			glykol	12,5				128 (1)			
				25,0	131 (2)		100 (1)	177 (1)		207 (1)	in Propylenglykol
										268 (4)	als Emulsion[1] mit
											0,5% Tween
				81,0	144[5]						
				100,0	175 (5)		264 (2)		144 (1)		
							420[4]				
				162,0	154[5]						
				272,0	156[1]						
p-Tolylmethyl-	1890		540	50,0		124 (1)					
carbinol-				80,0		140 (2)					
campherester-				100,0	100 (3)	161 (2)					
saures-diätha-				200,0	100 (1)	165 (1)					
nolamin (1 Tier)				600,0	116 (1)						
Dehydrochol-	> 6000		967	20,0	111 (2)	177 (2)		182 (1)		650 (3)	
säure				100,0	111 (5)	270 (2)	164 (3)				
					122[3]						
				200	131 (3)						
				400	140 (1)						

[1] Kalow. [2] Schöne. [3] Fromherz. [4] Robbers. [5] Grabe.

Tabelle 2. *Choleretische Wirkung von I am Hund. 100 mg/kg per os (Pernocton-Narkose).*

Tier	Spez. Gew.		Galle in cm³		mg-%				Pigment			
					Cholsäure		Trockensubstanz					
	I	II	I	II	I	II	I	II	I		II	
Durchschnittswert der Vorperiode 30 min	1,027	0,9677	0,85	1,55	14,3	38,0	50,0	92,0	+	+	+	+ -
Zeit in Std	Verabreichung von I											
	Zunahmen in Prozenten gegenüber der Ausscheidung in der Vorperiode											
0^{00}—0^{30}	1,019	1,0025	176	135	318	109	136	116	+ + +		+ + +	
0^{30}—1^{00}	1,024	1,0163	223	168	163	178	124	134	+ +		+ + +	
1^{00}—1^{30}	1,022	0,9989	341	181	253	221	212	154	+		+ + +	
1^{30}—2^{00}	1,008	0,9669	305	194	154	254	184	166	+		+ + +	
2^{00}—2^{30}	1,009	0,9637	229	200	73	263	126	196	+		+ +	
2^{30}—3^{00}		0,9663		258		413		264			+	
3^{00}—3^{30}		0,9555		220		308		218			+	

wurde die maximale Sekretion nach 30 min beobachtet. Die Wirkung klang in 2½ Std ab.

In der Tab. 1 sind die Ergebnisse zusammengestellt. Als Vergleichssubstanz dienten einerseits p-Tolylmethylcarbinol, bzw. p-Tolylmethylcarbinol-campherestersaures-diäthanolamin, das durch die Untersuchungen von Grabe und Kohlstaedt als choleretisch wirksamer Bestandteil des ätherischen Öls von Curcuma domestica und longa erkannt und von Kalk, Robbers, Schöne und Kalow genauer untersucht wurde, andererseits Dehydrocholsäure.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß I hinsichtlich seiner choleretischen Wirkung mindestens dem p-Tolylmethylcarbinol ebenbürtig ist. Unsere Ergebnisse hinsichtlich der Wirksamkeit des letzteren entsprechen weitgehend den Angaben von Kalow, während Schöne beim Hund eine stärkere Wirkung beobachtet hat. Bezüglich der schwachen, offenbar auf schlechter Resorption beruhenden Wirkung der Dehydrocholsäure nach peroraler Verabreichung stimmen unsere Befunde mit denen von Fromherz überein.

Beim Hund in Pernocton-Narkose (60 mg/kg i.m.) wurden nach peroraler Gabe von 100 mg/kg I das Trockengewicht und der Cholsäuregehalt der Galle nach Yosimi Abe bestimmt (Tab. 2).

Aus Tab. 2 ergibt sich, daß neben der Gallenmenge auch die Sekretion der Festsubstanz durch I gesteigert wird.

Ein ähnliches Ergebnis liefern die in Tab. 3 wiedergegebenen Daten. Sie stammen von 3 Kranken mit Gallenfisteln, die 200 mg I per os erhielten, nachdem am Vortag die durchschnittliche Sekretionsmenge in 30 min festgestellt worden war.

Tabelle 3. *Choleretische Wirkung von I beim Menschen nach Verabreichung von 200 mg per os (3 Patienten).*

	Galle in cm³			mg-% Bilirubin			Cholsäure		
Durchschnittswert am Vortag 30 min	5,4	9,1	3,3	0,9	1,24	1,53	117	21,1	33,0
Zeit in Std	Verabreichung von I Zunahmen in Prozenten der Ausscheidung am Vortag								
$0 — 0^{30}$	270	434	440	630	450	597	274	408	342
$0^{30} — 1^{00}$	130	242	272	210	210	262	413	126	258
$1^{00} — 1^{30}$	204	406	285	322	289	288	300	137	186
$1^{30} — 2^{00}$	240	352	258	462	219	286	280	72	102
$2^{00} — 2^{30}$	240	330	302	420	276	346	334	68	80
$2^{30} — 3^{00}$	278	252	254	500	248	310	392	49	69
$3^{00} — 3^{30}$	204	286	302	420	329	447	338	49	75
$3^{30} — 4^{00}$	278	352	302	340	322	418	435	55	88
$4^{00} — 4^{30}$	—	320	318	—	404	408	—	53	104
$4^{30} — 5^{00}$	—	302	242	—	314	262	—	66	52
$5^{00} — 5^{30}$	—	362	334	—	411	392	—	123	128
$5^{30} — 6^{00}$	—	286	248	—	288	294	—	56	42
$6^{00} — 11^{00}$	-	255	—	—	232	—	-	42	—
$11^{00} — 12^{00}$	170	—	427	322	—	655	56	—	180
$12^{00} — 24^{00}$	172	101	100	310	127	161	68	28	19

Auch hier ist mit der Zunahme der Gallenmenge eine Mehrausscheidung der Festsubstanzen verbunden, die sich in der Zunahme der Ausscheidung von Cholsäure und Bilirubin (nach JENDRASSIK bestimmt) äußert.

Zusammenfassung.

Bei der Untersuchung einer Reihe von Aryl-Alkanolen hinsichtlich choleretischer Wirksamkeit fiel das l-Phenyl-propanol auf und wurde deshalb einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Es erwies sich als gut verträgliche, stark choleretisch wirksame Verbindung, die sowohl nach peroraler wie nach intraduodenaler, i.m. und i.v. Verabreichung den Gallenfluß nachhaltig steigert und parallel zu einer Zunahme der Ausscheidung der Festsubstanzen durch die Galle führt. Eine mäßig spasmolytische Wirksamkeit, die auch den Sphincter-Oddi miteinschließt, dürfte für die therapeutische Verwendbarkeit ebenfalls nützlich sein.

Literatur.

Erdmann, W.-D., u. H. F. Henne: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 462—478 (1953). — Fromherz, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**/5, 571 bis 582 (1943). — Grabe, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 673—682 (1934). — Jendrassik, L., u. R. A. Cleghorn: Biochem. Z. **289**, 1 (1936). — Jendrassik, L., u. P. Graf: Biochem. Z. **297**, 81 (1938). — Kalk, H.: Dtsch. med. Wschr. **1942**, 502—506. — Kalow, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 35 u. 43 (1949); **207**, 696 (1949). — Kohlstaedt, E.: Pharmazie **2**/12, 529—536 (1947). — Robbers, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 328 (1936). — Schöne, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **190**, 273 (1938). — Yosimi Abe: J. of Biochem. **25**, 181 (1937); **26**, 323 (1937).

Prof. Dr. Hedwig Langecker,
Hauptlaboratorium d. Schering AG., Berlin N 65, Müllerstr. 170/2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 309—313 (1955).

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering A.G., Berlin-West.

Das Schicksal des 17-α-Oxyprogesterons und seines 17-Capronates im menschlichen Organismus.

II. Mitteilung*.

Von

H. Langecker.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 19. Dezember 1954.)

Nach Verabreichung großer Gaben von 17-α-Oxyprogesteron(I)[1] konnte im Harn die unveränderte Verbindung nur in Spuren und 3.17,20-Pregnantriol(II), das man als Umwandlungsprodukt erwartet hätte, nur geringfügig vermehrt nachgewiesen werden. Zur Klarstellung der Frage, ob diese relativ kleine Zunahme der II-Ausscheidung darauf zurückzuführen ist, daß bei der verwendeten milden Säurehydrolyse Glucuronide der Spaltung entgehen, wurde in der vorliegenden Arbeit die Untersuchung auf Metabolite im Harn nach Inkubation mit β-Glucuronidase[2] durchgeführt und neben I und II auch Pregnan-3,17-diol-20-on nachgewiesen.

Methodik.

Die Bestimmungen wurden in aliquoten Teilen eines unter Chloroformzusatz gesammelten 48-Stundenharns ausgeführt. Hinsichtlich der Bestimmung von 17-Ketosteroiden, I, II und Pregnan-3,20-diol(III), vgl. I. Mitteilung. Vor der Inkubation wurden durch einmalige Chloroformextraktion bei p_H 2,0 (1 T Harn, 1 T Chloroform) I und sein Capronat abgetrennt. Nach Einstellen auf p_H 4,8 folgte bei 37° eine 20stündige Inkubation mit Glucuronidase (10000 Fishman-E je 30 cm³ Harn). Eine längere Inkubation erhöht die Ausbeute nicht. Der Harn wurde dann mit Soda auf p_H 6,0—7,0 abgestumpft und 6mal mit je einem Viertel Volumen frisch destilliertem Chloroform ausgeschüttelt, die vereinigten Extrakte zentrifugiert und die wäßrige Phase noch einmal mit Chloroform extrahiert. Da sich bei der Verwendung dieser Extrakte für die II-Bestimmung bei der Destillation des Acetaldehyds Schwierigkeiten ergaben, wurden die Chloroformextrakte noch einer

* I. Mitteilung siehe diese Zeitschrift **223**, 306 (1954).

[1] Der Schmelzpunkt von 17-α-Oxyprogesteron wurde in der I. Mitteilung irrtümlich mit 112—115° angegeben, er liegt bei 212—215°.

[2] Die verwendete β-Glucuronidase wurde im Hauptlaboratorium der Schering A.G. von den Herren Dr. H. Gibian und Dr. G. Bratfisch hergestellt, die die Beobachtung machen konnten, daß sich im Gegensatz zu den Angaben der Literatur frische Rinderleber weit besser als Ausgangsmaterial hinsichtlich Ausbeute und Reinheitsgrad eignet als die gewöhnlich verwendete acetongetrocknete Leber. Das Ferment wurde während der Versuche hinsichtlich Aktivität kontrolliert.

schwachen Säurehydrolyse (Rabinovitsch) unterworfen und mit Chloroform extrahiert. Die gesammelten Chloroformextrakte wurden einmal mit einem Zehntel Volumen n Natronlauge und dreimal mit einem Zehntel Volumen Wasser gewaschen und die Waschwässer noch einmal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Natriumsulfat (5 g/100 cm³ Harn) getrockneten Extrakte wurden im Vakuum eingeengt, in Benzol (30 cm³/100 cm³ Harn) aufgenommen und einmal mit 3 cm³ n NaOH, dreimal mit 3 cm³ Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Bei der Untersuchung normaler Harne lag bei diesem Vorgehen die II-Ausscheidung gegenüber früheren Befunden (einfache milde Säurehydrolyse) wesentlich höher.

Parallel hierzu wurden die Chloroformextrakte nach der Säurehydrolyse chromatographisch gereinigt (3 g saures Aluminiumoxyd [Brockmann] in einer Säule von 6 mm lichter Weite und 170 mm Länge in Benzol). Der in 1 cm³ Benzol aufgenommene Extrakt (entsprechend 100—500 cm³ Harn) wurde aus einem Schütteltrichter unter zweimaligem Nachwaschen mit je 1 cm³ Benzol auf die Säule gebracht. Eluiert wurde unter Stickstoffdruck von 50 mm Hg mit Fraktionen von je 30 cm³ Benzol, 2,0, 5,0 und 20,0% Äthylalkohol-Benzol. In Zusatzversuchen war festgestellt worden, daß II sich auf die 3 Äthylalkohol-Benzolfraktionen verteilt. In den eingeengten Eluaten wurde II bestimmt. Für die Darstellung der II-Ausscheidung in Abb. 1 wurde der Mittelwert aus Doppelbestimmungen mit und ohne chromatographische Reinigung gewonnener Extrakte verwendet.

Ferner wurden in der mittels Girard T-Reagens gewonnenen Keton-Fraktion vor und nach Reduktion 17-20-Pregnandiole bestimmt. Damit war es möglich, in 3- bzw. 20-Stellung reduziertes I neben I zu erfassen. Das ungespaltene I-Capronat läßt sich nicht über Reduktion zu II bestimmen, weil unter den Reaktionsbedingungen keine Esterspaltung erfolgt. Zu seinem Nachweis wurde die von Pesez angegebene Farbreaktion (mit 50%iger alkoholischer Schwefelsäure in kochendem Wasserbad 5 min stehen lassen) benützt. Die Reaktion wurde im ersten Harnchloroformextrakt durchgeführt und gestattet nach Zusatzversuchen nur noch 200 γ in einem Fünftel der Tagesmenge gegenüber dem Harnleerwert zu erkennen. Die Reaktion erhält man auch mit Δ5-Pregnen-3-β, 17-α-diol-20-on-17-capronat, $C_{27}H_{12}O_4$, Mol.Gew. 430,6, Schmelzpunkt 145—146°, $(M)_D^{20°}$ — —284° (Chloroform)[1].

Zum Nachweis eines vermehrten Auftretens von Steroidalkoholen haben wir in den Eluaten der Nicht-Keton-Fraktion, die chromatographisch gereinigt waren, neben der II-Bestimmung entsprechend den Angaben von Kellie die 3,5-Dinitrobenzoesäureester colorimetrisch ermittelt, wobei für die Veresterung eine Harnmenge entsprechend 2 mg II benützt wurde. Als Bezugssubstanz diente ein dinitrobenzoesaurer Ester eines durch Hydrierung aus I gewonnenen Isomerengemisches von II. Nach Elementaranalyse, Mol.Gew.- und Hydroxylgruppenbestimmung wurde unter den Reaktionsbedingungen die 17-OH-Gruppe nicht verestert.

Bei einem 31jährigen, gesunden Mann wurden nach intramuskulärer Verabreichung von 1,0 g I in wäßriger Suspension über mehrere Wochen hin die Metabolite im Harn aufgesucht (Abb. 1).

Aus Abb. 1 ist zu erkennen, daß im Gegensatz zu den Befunden der ersten Arbeit eine deutliche Zunahme der II-Ausscheidung feststellbar war. Man muß daher annehmen, daß bei der milden Säurehydrolyse II-Glucuronide der Spaltung entgangen sind. In den ersten 6 Tagen

[1] Die Substanz wurde im Laboratorium des Herrn Dr. M. Schenck von Dr. K. H. Pawlowski dargestellt.

betrug die II-Ausscheidung 5% und in 3 Wochen insgesamt 11% der Eingabe unter Abzug des mittleren Normalwertes von 2,6 mg/Tag.

I war nur in Spuren nachweisbar, ebenso das in 20-Stellung reduzierte I, hingegen in größeren Mengen, wenn auch gegenüber II zurücktretend, das in 3-Stellung reduzierte I. Im Höchstfall betrug die Ausscheidung je Tag 2,4‰ der Eingabe. Es wird demnach die 20-Ketogruppe von I im Stoffwechsel wie die des Progesterons (BUTENANDT)

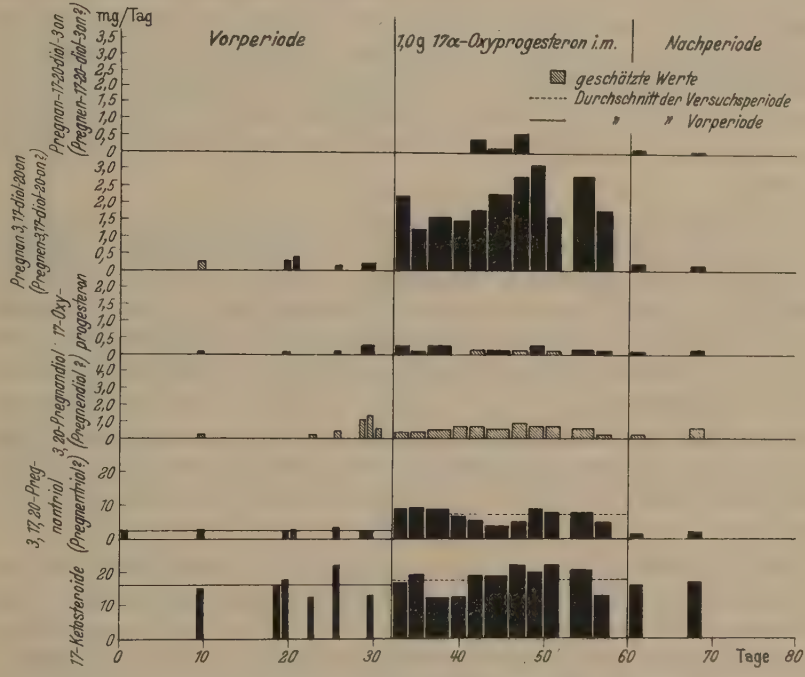


Abb. 1. Die Ausscheidung von 17-α-Oxyprogesteron und seinen Metaboliten im Harn. Zur besseren Anschaulichkeit wurden verschiedene Maßstäbe gewählt.

reduziert. Der Wert der gesamten Steroidalkohole blieb 4 Wochen hindurch erhöht, um hernach wieder abzuklingen. Eine zahlenmäßige Wiedergabe erscheint wegen methodischer Unsicherheiten noch nicht gerechtfertigt. — Die 17-Ketosteroide waren während des Versuches Schwankungen von der Größe des Normalen unterworfen. — Die III-Ausscheidung blieb innerhalb der Grenze der nicht mehr exakt nachweisbaren Menge.

Es ergibt sich demnach, daß I beim Menschen im Harn nur in Spuren ausgeschieden wird. Der Abbau verläuft über Reduktion der beiden Ketogruppen, vermutlich auch der Doppelbindung. Die Bestimmungsmethoden gestatten nicht, zwischen Pregnanen und Pregnenen zu unterscheiden.

Per analogiam kann man annehmen, daß es sich um Pregnanderivate handelt, wobei offenbleibt, ob Produkte der Allo- oder Normalreihe vorliegen. 17-Ketosteroide treten nicht vermehrt auf (vgl. hierzu die Diskussion in der 1. Mitteilung). Mit den untersuchten Metaboliten konnte etwa ein Zehntel der Eingabe erfaßt werden, und es bleibt offen, was mit den übrigen neun Zehnteln geschieht. Da die Konfiguration der Seitenkette von I bei alkalischer Reaktion eine D-Ringerweiterung ermöglicht, müßte besonders darauf geachtet werden, ob auch im Organismus eine solche Umlagerung auftritt, zumal, da von Klyne im Pferdeharn D-Homosteroide nachgewiesen wurden. Ebenso läßt die fehlende 17-Ketosteroidbildung die Suche nach Ätiosäuren wünschenswert erscheinen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Untersuchung von Galle und Kot weiteren Aufschluß über das Schicksal von I ermöglicht.

I verhält sich demnach im Stoffwechsel ähnlich wie Progesteron.

Bei einer 49jährigen männlichen Versuchsperson wurde 1,28 g I-Capronat in öliger Lösung intramuskulär verabreicht. Im Verlauf von 3 Wochen konnte I-Capronat niemals in Mengen über 1,0 mg/Tag nachgewiesen werden. Es trat keine Veränderung der I, II, III, Pregnan-3,17-diol-20-on- und der 17-Ketosteroidausscheidung auf. Bisher fehlt uns die Nachweismöglichkeit eines II-17-Capronats, so daß nicht ausgeschlossen werden kann, daß im Organismus I-Capronat in 3- und 20-Stellung bei erhaltener 17-Veresterung reduziert wird. — Dibbelt hat bei einer Frau in der Menopause nach der Verabreichung von 250 mg I-Capronat intramuskulär keine Veränderung der III-Ausscheidung gefunden.

Bei einer schwangeren Frau konnten wir nach intramuskulärer Verabreichung von 1,0 g I-Capronat am 90. Tag nach der letzten Menstruation I nur in Spuren nachweisen. (Die 17-Ketosteroidausscheidung zeigte gegenüber der Vorperiode keine Zunahme.) Die III-Ausscheidung stieg von einem Mittelwert aus drei Tagen der Vorperiode von 2,5 mg auf 4,2 mg in den drei folgenden Tagen und auf 9,5 in den nächsten zwei Tagen. Es sieht so aus, als wenn in der Schwangerschaft die Umwandlung von I im Stoffwechsel zu einer vermehrten III-Ausscheidung führt, wobei noch festzustellen bleibt, ob es sich um freies III oder II-17-capronat handelt.

Zusammenfassung.

Bei einer männlichen Versuchsperson wurde nach intramuskulärer Verabreichung von 17-α-Oxyprogesteron eine Vermehrung der Pregnan-3,17, 20-triol- und Pregnan-3,17-diol-20-on-Ausscheidung nachgewiesen. Die Ausscheidung der 17-Ketosteroide und die des Pregnan-3,20-diols blieb unbeeinflußt. — Nach der Verabreichung von 17-α-Oxyprogesteron-17-capronat bei einer männlichen Versuchsperson trat die ungespaltene

Verbindung nicht in Mengen über 1,0‰ der Eingabe je Tag auf. Ebensowenig konnte 17-α-Oxyprogesteron sowie Pregnan-3,17-diol-20-on nachgewiesen werden. Die Ausscheidung von Pregnan-3,17,20-triol, Pregnan-3,20-diol sowie der Ketosteroide blieb unverändert. — Bei einer schwangeren Frau nahm nach intramuskulärer Verabreichung von 17-α-Oxyprogesteron-17-capronat die Pregnan-3,20-diol-Ausscheidung zu.

Fräulein Chr. Ertel, Fräulein R. Lendorff und Fräulein U. Strauch haben bei der Arbeit wertvolle Hilfe geleistet.

Anmerkung bei der Korrektur: Der Nachweis von Pregnantriol (II) als Metabolit von 17-α-Oxyprogesteron (I) unterstützt die Annahme, daß beim adrenogenitalen Syndrom mit Nebennierenhyperplasie eine Störung der Corticoidsynthese auf der I-Stufe vorliegt. Nach Bongiovanni (Bull. Hopkins Hosp. **92**, [1953] 244) und eigenen Erfahrungen läßt sich bei Nebennierenhyperplasie durch Cortison die Ausscheidung der 17-Ketosteroide *und* die von II unterdrücken.

Literatur.

Butenandt, A., u. E. Heuser: Ber. **72**, 1119 (1939). — Dibbelt, L.: Unveröffentlicht. — Kellie, A. E., E. R. Smith and A. P. Wade: Biochemic. J. **53**, 578, 582 (1953). — Klyne, W., B. Schachter and G. F. Marrian: Biochemic. J. **43**, 231, 611 (1953). — Langecker, H., u. W. Prescher: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 306 (1954). — Pesez, M.: Bull. Soc. chim. France **1954** M, 1071. — Rabinovitsch, J.: C. s. Lancet **1951**, Nr. 6696, 1201.

Prof. Dr. Hedwig Langecker,
Hauptlaboratorium der Schering A.G., Berlin-West, Müllerstr. 170/2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 314—322 (1955).

Aus dem Physiologischen Institut
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau
(Direktor: Prof. Dr. P. Hoffmann).

Das Verhalten der Körpertemperatur im Sauerstoffmangel*.

Von
J. Pichotka, O. Creutzfeldt und W. Höfler.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Oktober 1954.)

Eine Beeinflussung der Körpertemperatur warmblütiger Tiere durch große Höhen oder durch experimentelle Erniedrigung der Sauerstoffspannung ist von zahlreichen Untersuchern berichtet worden. Die Beobachtungen am Menschen im Gebirge und in der Unterdruckkammer in relativ geringen Höhen (bis etwa 4000 m), ergaben im allgemeinen eine Erhöhung der Rectaltemperatur[5, 14, 19]. Dagegen fand sich bei der kurzfristigen Atmung sauerstoffarmer Gemische entsprechend Höhen bis zu 8000 m ein deutliches Absinken der Rectaltemperatur[8, 15, 16, 24]. In den zahlreichen Untersuchungen an den verschiedensten Tierarten wurde im O_2-Mangel anscheinend immer eine Senkung der Rectaltemperatur beobachtet[2, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 18, 20, 23]. In mehreren Untersuchungen kommt eine Beziehung zwischen dem Grad der Erniedrigung der Rectaltemperatur und dem Grad des O_2-Mangels zum Vorschein. Je geringer die O_2-Spannung ist, um so mehr ist die Körpertemperatur gesenkt[15, 18, 23]. Diese Beziehung fand aber anscheinend keine weitere Bearbeitung.

Die Senkung der Körpertemperatur im O_2-Mangel ist in der Literatur unter zwei Gesichtspunkten diskutiert worden. Eine größere Zahl von Untersuchern sieht darin die Einstellung auf ein erniedrigtes Stoffwechselniveau[4, 9, 10, 11, 13, 18, 23]. Entsprechend der weitverbreiteten Meinung wird dabei vorausgesetzt, daß das Warmblütergewebe mit der Erniedrigung der Temperatur eine der RGT-Regel entsprechende Herabsetzung des Stoffwechsels erfahre. In den neueren Arbeiten wird die Senkung der Körpertemperatur im O_2-Mangel zumeist als Ausdruck einer Störung der Temperaturregulation angesehen[6, 7, 8, 11, 15, 16, 24].

Eine tatsächliche Stellungnahme zu der Bedeutung der Temperaturerniedrigung im Sauerstoffmangel ist nur möglich, wenn der *Verlauf* dieser Änderung in seinen charakteristischen Eigenschaften bekannt ist. Solche Messungen liegen anscheinend nicht vor. Die bisherigen Messungen

* Herrn Professor Dr. P. Hoffmann zum 70. Geburtstag gewidmet.

erfolgten fast alle mit dem Quecksilberthermometer am Ende der hypoxischen Phase. Die wenigen Fälle, in denen eine laufende Messung der Körpertemperatur im O_2-Mangel erfolgte, sind auch nicht zu verwerten, weil sie nicht bis zur Einstellung stationärer Zustände geführt sind und weil sie nur wenige und zufällige Versuchssituationen betreffen[11, 15, 16]. In der folgenden Untersuchung ist daher systematisch der Verlauf der Körpertemperatur bei den verschiedenen Graden des O_2-Mangels dargestellt.

Methodik.

Die Experimente wurden an Meerschweinchen durchgeführt. Die Tiere waren vor Versuchsbeginn mehr als 6 Wochen im temperierten Stall (20—22°) und bei Standardfütterung. Das Gewicht der Tiere betrug 350—780 g und lag in der Mehrzahl der Fälle dicht um 400 g.

Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen wurden die Tiere bis zum Beginn des Experimentes gefüttert. Ein mehrstündiges oder gar vielstündiges Fasten bringt Meerschweinchen wie andere kleine Nager in den Hungerzustand. Dabei treten eine Reihe von Regulationen in Funktion, die das Bild des Verhaltens im O_2-Mangel stark beeinflussen können.

Die größere Zahl der Beobachtungen (87) wurden in einer kleinen Unterdruckkammer (30 l) durchgeführt. Dazu wurden die Tiere in genau passenden zylindrischen Drahtkäfigen im Zentrum der Kammer aufgehängt. Die Käfige waren so bemessen, daß eine geringe Bewegungsfreiheit erhalten blieb, eine Änderung der Stellung jedoch unmöglich war. Die Einstellbewegung der Rectaltemperatur wurde jeweils bei einer konstant gehaltenen erniedrigten O_2-Spannung verfolgt — und zwar bei den in der Tab. 1 angegebenen Bedingungen. Die Zahlen in der Tab. 1 sind abgerundete Werte für Höhe, Gesamtdruck, O_2-Spannung und O_2-Gehalt. Die in Klammern gesetzten Zahlen sind die jeweils auf die Höhe bezogenen genauen Werte nach der INA.

Tabelle 1.

Höhe	Gesamtdruck	O_2-Spannung	O_2-Gehalt in %
3500 m	500 (493,0) mm Hg	100 (102,5) mm Hg	
5000 m	400 (404,8) mm Hg	80 (84,1) mm Hg	
7000 m	300 (307,8) mm Hg	60 (64,0) mm Hg	8,0 (8,4)
8500 m	250 (247,8) mm Hg	50 (51,5) mm Hg	
10000 m	200 (197,8) mm Hg	40 (41,1) mm Hg	5,5 (5,39)

Die Druckminderung zu Beginn des Versuchs bis zur Einstellung des gewünschten Versuchsniveaus erfolgte mit einer Geschwindigkeit von etwa 50 mm Hg/min, so daß die Versuchshöhe in 5—10 min erreicht wurde.

Ein Teil der Messungen (43) erfolgte bei Normaldruck. Dazu wurden N_2-O_2-Gemische mit 8% O_2 und 5,5% O_2 benutzt. Die Umschaltung von normaler Luft auf die sauerstoffarmen Gemische erfolgte in diesen Versuchen ohne Übergang. Die Versuche mit Reduktion des Gesamtdruckes führten zu denselben Ergebnissen wie der Gebrauch von N_2-O_2-Gemischen mit gleicher Herabsetzung der O_2-Spannung. In der Darstellung sind daher die Ergebnisse beider Methoden zusammen verwandt, und als gemeinsames Maß die Größe des Sauerstoffpartialdrucks (p O_2) angegeben.

Zur Temperaturmessung wurde ein Rectalelement aus Kupfer-Konstanten verwandt. Das Vergleichselement befand sich in einem Thermostaten von 34°. Um

die bei dieser Messung störenden Schwankungen der Thermostatentemperatur abzufangen, wurde das Vergleichselement in einer Dewar-Flasche vollständig verschlossen in das Wasserbad versenkt. Dadurch wurden zwar die Zeiten bis zur Einstellung einer konstanten Temperatur verlängert, andererseits aber eine vollständige Nivellierung auf der mittleren Thermostatentemperatur erreicht. Der Meß-

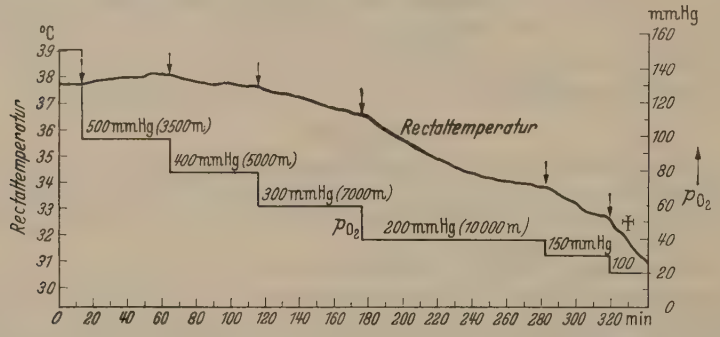


Abb. 1. Verhalten der Rectaltemperatur bei stufenweiser Änderung der O_2-Spannung durch Änderung des Gesamtdrucks. Mit der Herabsetzung des Gesamtdrucks auf 500 mm Hg erfolgt ein Anstieg der Temperatur um 0,4°. Jede weitere Herabsetzung führt zu einem zunehmend steileren Abfall der Rectaltemperatur.

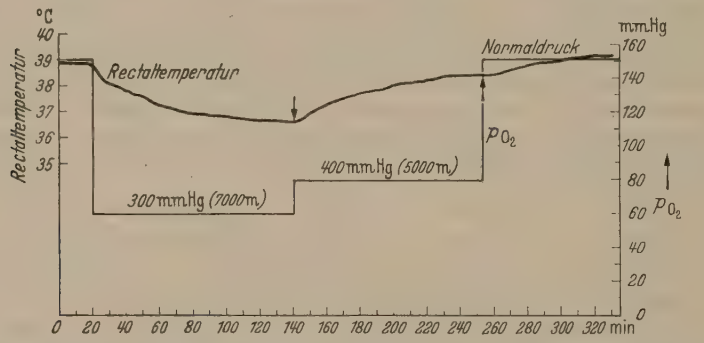


Abb. 2. Verhalten der Rectaltemperatur bei stufenweiser Änderung der O_2-Spannung. Nach Herabsetzung der O_2-Spannung auf 60 mm Hg erfolgt eine Einstellung auf eine konstante Temperatur von 36,6°. Nach Erhöhung der O_2-Spannung auf 80 mm Hg stellt sich die Temperatur auf 38,3° ein, um bei Normaldruck auf 39,3° zu steigen.

kreis war zuverlässig gegen Nebenpotentiale gesichert. Die Registrierung des Temperaturverlaufs erfolgte mit einem Multiflex-Galvanometer von 25 Ω Innenwiderstand.

Insgesamt wurde die Einstellung der Rectaltemperatur bei Veränderung der O_2-Spannung an 54 Tieren 130mal registriert. Alle Versuche, über die hier berichtet wird, wurden bei einer Raumtemperatur von 20—22° durchgeführt.

Ergebnisse.

Geringe Änderungen der normalen Sauerstoffspannung sind bei normaler Raumtemperatur ohne meßbaren Einfluß auf die Rectaltemperatur des Meerschweinchens. Eine Herabsetzung der O_2-Spannung auf 100 mm

Hg führt bei dem größten Teil der Tiere zu einer deutlichen Änderung der Rectaltemperatur. In wenigen Minuten beginnt ein Anstieg, der maximal 0,5—1,0° erreicht. Bei einem weit geringeren Teil der Tiere findet sich diese charakteristische Zunahme der Rectaltemperatur erst bei einer O_2-Spannung von 80 mm Hg. In einzelnen Fällen tritt sie bereits bei Drucken von deutlich mehr als 100 mm Hg O_2 ein.

Bei stärkerer Verminderung der O_2-Spannung tritt immer eine Senkung der Rectaltemperatur ein. Tiere, die bei 100 mm Hg eine erhöhte Rectaltemperatur aufwiesen, erfuhren bei 80 mm bereits eine deutliche Herabsetzung. Bei weiterer Erniedrigung der O_2-Spannung findet sich eine proportional zunehmende Senkung der Rectaltemperatur.

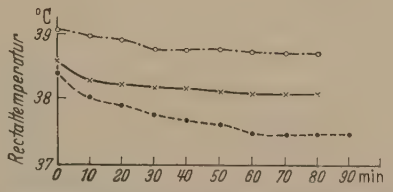


Abb. 3. Einstellbewegungen der Rectaltemperatur bei Herabsetzung der O_2-Spannung auf 80 mm Hg (400 mg Hm Gesamtdruck).

Dieses Verhalten ist in zwei Übersichtsversuchen in den Abb. 1 und 2 dargestellt. Wegen der Langsamkeit der Temperatureinstellung und der beschränkten Überlebenszeit der Tiere konnte in dem Versuch in Abb. 1 nicht auf jeder Stufe die Erreichung des völligen Gleichgewichts abgewartet werden. Die prompte Versteilerung des Temperaturabfalles mit jeder neuen Druckerniedrigung und die einsinnige Einstellbewegung der Temperatur bei einem bestimmten Druck zeigen aber an, daß auf jeder der hier eingeführten Stufen der O_2-Spannung eine bestimmte Temperatur angesteuert wird.

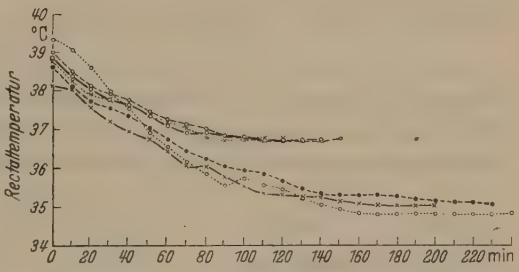


Abb. 4. Einstellbewegungen der Rectaltemperatur bei Herabsetzung der O_2-Spannung auf 60 mm Hg. Die Verläufe bilden zwei deutliche Gruppen. In der einen Gruppe wird eine konstante Temperatur im Intervall von 36,5—37° erreicht, in der zweiten Gruppe im Intervall von 34,5—35°. Zwischen diesen Intervallen wurden keine konstanten Temperaturen beobachtet.

In dem in der Abb. 2 dargestellten Experiment wurde der Druck im ersten Schritt auf 60 mm Hg O_2 herabgesetzt. Nach Einstellung einer konstanten Körpertemperatur wurde die O_2-Spannung in zwei Schritten wieder auf den normalen Wert gebracht. Die Erhöhung der O_2-Spannung ist jeweils von einem charakteristischen Anstieg der Rectaltemperatur gefolgt.

In den Abb. 3, 4 und 5 ist der Verlauf der Rectaltemperatur nach der Erniedrigung der O_2-Spannung auf 80, 60 und 40 mm Hg dargestellt.

Nach der Reduktion der O_2-Spannung auf 80 mm Hg fällt die Temperatur im allgemeinen um 0,5—1,0° und erreicht in etwa 1 Std Konstanz auf dem neuen Wert (Abb. 3). Komplizierter sind die Verhältnisse nach der Herabsetzung der O_2-Spannung auf 60 mm Hg (Abb. 4). Der dabei eintretende Temperaturabfall beträgt 2,0 bis 4,5°. Die resultierenden Endtemperaturen liegen in zwei eng umschriebenen Intervallen. Das obere Intervall liegt zwischen 36,5° und 37°, das untere zwischen 34,5° und 35°. Zwischen diesen beiden Intervallen wurden keine konstanten Einstelltemperaturen beobachtet. Ein im Prinzip ähnliches Ergebnis findet sich nach der Reduktion der O_2-Spannung auf 40 mm Hg. Ein Teil der Tiere stellt unter dieser Bedingung noch eine über längere Zeit konstante Temperatur ein, und zwar in unseren Experimenten ausschließlich im Intervall von 34—35°. Bei dem übrigen

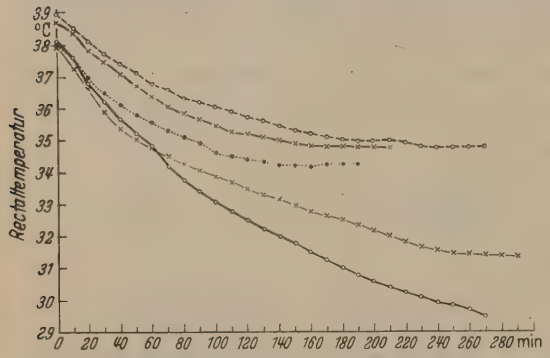


Abb. 5. Einstellbewegungen der Rectaltemperatur bei Herabsetzung der O_2-Spannung auf 40 mm Hg. Ein Teil der Tiere erreicht eine konstante Temperatur im Intervall von 34—35°. Bei einem anderen Teil erfolgt überhaupt keine feste Einstellung mehr, sondern die Temperatur fällt kontinuierlich weiter.

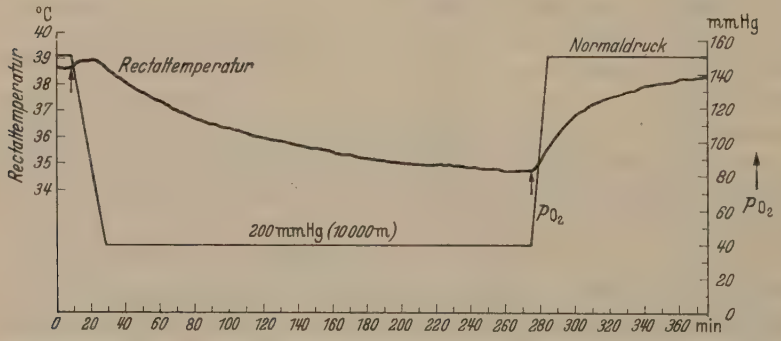


Abb. 6. Einstellbewegung der Rectaltemperatur nach Erniedrigung der O_2-Spannung auf 40 mm Hg. (Gesamtdruck 200 mm Hg). Wiederherstellung der normalen O_2-Spannung. Deutlich exponentieller Abfall bis zu einer konstanten Temperatur von 34,8°. Steiler exponentieller Wiederanstieg nach Erhöhung der O_2-Spannung.

Teil wird bei dieser O_2-Spannung überhaupt keine konstante Temperatur mehr erreicht. Die Temperatur fällt vielmehr mit wechselnder Steilheit kontinuierlich weiter bis zum Tode, sofern der Versuch nicht vorher abgebrochen wird. Auch in diesen Verläufen tritt in der Nähe von 30° häufig

eine deutliche Verlangsamung des Temperaturabfalls ein, vergleichbar dem Verhalten beim Passieren dieses Temperaturintervalls bei kontinuierlicher Abkühlung unter normaler O_2-Spannung[22].

In zwei Experimenten wurde dieser zuletzt beschriebene Verlauf, der nicht mehr zur Einstellung einer konstanten Temperatur führt und der im allgemeinen charakteristisch war für O_2-Spannungen von 40 mm Hg und weniger, bereits bei 60 mm Hg beobachtet. Es wurde nachträglich festgestellt, daß die beiden Tiere am Versuchstag bei der Fütterung übergangen worden waren.

Die Einstellung der Temperatur erfolgt mit einer Exponentialfunktion. Die Steilheit des Temperaturabfalles schon in den ersten Zeitintervallen steht in offensichtlicher Proportionalität zu der Größe der endgültigen Temperatursenkung. Für den Wiederanstieg der Temperatur nach Erhöhung der O_2-Spannung gelten die gleichen Gesetzmäßigkeiten. Im ganzen erfolgen die Temperaturanstiege nach Erhöhung der O_2-Spannung steiler, als die Temperaturabfälle bei den entsprechenden Verminderungen der O_2-Spannung, so daß in den Anstiegen der exponentielle Charakter deutlicher zum Vorschein kommt. Ein Beispiel dafür ist in der Abb. 6 gegeben.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Änderung der Körpertemperatur mit der O_2-Spannung ist zweifellos gesetzmäßig. In dem Bereich der O_2-Spannungen, in dem beim Meerschweinchen Überlebensfähigkeit für wesentliche Zeiten besteht, stellt sich für Stunden eine erniedrigte Rectaltemperatur von völliger Konstanz ein. Die Höhe dieser Temperatur steht in strenger Beziehung zur O_2-Spannung. Auch geringe Änderungen der erniedrigten O_2-Spannung führen momentan zu einer neuen Einstellbewegung auf eine entsprechend erhöhte oder erniedrigte Rectaltemperatur. Dieses Verhalten weist aus, daß es sich bei der Verstellung der Körpertemperatur um eine empfindliche Einstellung auf eine neue Gleichgewichtslage handelt.

Nach den in der Literatur vorliegenden nicht systematischen Beobachtungen[15, 16, 19] muß für den Menschen ein ähnliches Verhalten angenommen werden, wie es in dieser Untersuchung für das Meerschweinchen beschrieben wurde. Soweit auf Grund der spärlichen Daten geschlossen werden kann, sind die O_2-Spannungen, die diese Reaktionen der Körpertemperatur auslösen, bei Mensch und Meerschweinchen nicht wesentlich verschieden.

Die Tatsache des Abfalls der Körpertemperatur im O_2-Mangel ist als Störung der Temperaturregulation beschrieben worden[6, 7, 8, 11, 15, 16, 24]. Dabei setzte man voraus, daß der Inhalt des Geregeltseins eine absolute Konstanz der Körpertemperatur sei. Das ist aber keineswegs notwendig und entspricht auch nicht den experimentellen Tatsachen. Die Warmblüter zeigen auch im Behaglichkeitsbereich eine deutliche Bewegung der

Körpertemperatur mit der Umgebungstemperatur. Gerade die Bewegungen der Rectaltemperatur im O_2-Mangel zeigen das charakteristische Verhalten geregelter Größen bei der Einstellung auf neue Gleichgewichtslagen, das man nach der Theorie geregelter Systeme erwarten muß. Die in dieser Untersuchung beschriebenen Bewegungen der Körpertemperatur im O_2-Mangel sind nur zu verstehen als Teil eines komplizierten und umfassenden Regelvorgangs, der durch die herabgesetzte O_2-Spannung eingeleitet wird und zur Einstellung neuer Gleichgewichtslagen unter Beteiligung der Körpertemperatur führt.

Von einer anderen Gruppe von Autoren ist die Senkung der Körpertemperatur im O_2-Mangel als Sparreaktion oder als eine Einstellung auf eine niedrigere Stoffwechsellage diskutiert worden[4, 9, 10, 11, 13, 18, 23]. Dieser Vorstellung lag die Annahme zugrunde, daß die Stoffwechselgröße mit sinkender Körpertemperatur eine Erniedrigung gemäß der RGT-Regel erfahre. Es ist aber eine notwendige Voraussetzung, daß ein System mit geregelter Temperatur unterhalb des gewöhnlich konstant gehaltenen Wertes (Sollwert) mit fallender Temperatur eine zunehmende Wärmebildung aufweist[21, 22]. Die Mechanismen über die die Zunahme der Wärmebildung erfolgt, sind dabei für die grundsätzliche Frage gleichgültig. Das Bestehen einer so gerichteten Korrelation von Körpertemperatur und Stoffwechselgröße ist durch zahlreiche experimentelle Untersuchungen bei normaler O_2-Spannung bestätigt. Der Bereich, in dem beim Meerschweinchen bei normaler O_2-Spannung mit fallender Körpertemperatur die Stoffwechselgröße steigt, erstreckt sich im allgemeinen bis zu einer Rectaltemperatur von 34°[22]. Bis zu dieser Grenze kann unter den Bedingungen einer extrem erhöhten Wärmeabgabe eine konstante Körpertemperatur aufrechterhalten werden. Das ist derselbe Bereich in dem wir im Sauerstoffmangel Einstellung auf erniedrigte konstante Temperaturen beobachten. Die innerhalb dieses Bereichs erniedrigte Körpertemperatur müßte also notwendigerweise einen *relativen* Anstieg der Stoffwechselgröße bedeuten gegenüber den Bedingungen, unter denen in der gleichen Stoffwechsellage die *höhere*, „*normale*" Temperatur eingehalten wird. Es liegt in der Gesetzmäßigkeit eines solchen Systems, daß bei einer erniedrigten Temperatur selbst die *absolute O_2-Aufnahme höher sein kann als normal.*

Dieses Ergebnis findet sich in den simultanen Messungen Wezlers und Franks realisiert[24]. Das Zusammentreffen von erniedrigter Körpertemperatur und absolut erhöhter O_2-Aufnahme im O_2-Mangel muß zudem aus einer ganzen Reihe nicht gleichzeitiger Messungen dieser Größen geschlossen werden. Der Annahme, daß es sich bei der Erniedrigung der Körpertemperatur um eine „Sparreaktion" handelt, fehlen somit alle Voraussetzungen.

Sofern die Körpertemperatur von wesentlicher Bedeutung ist für das Verhalten des Organismus bei erniedrigter O_2-Spannung muß aus allgemeinen Erwägungen angenommen werden, daß die Verstellung der Körpertemperatur immer in die

stabilere Lage des Systems führt. Die Erniedrigung der Körpertemperatur, die im O_2-Mangel eintritt, müßte also in diesem Sinne einen „Vorteil" für den Organismus mit sich bringen. Diese Annahme ist auch mit einer ganzen Reihe von experimentellen Erfahrungen zu belegen. Die Erstickungsdauer bei erniedrigter O_2-Spannung ist unter sonst gleichen Bedingungen in auffälliger Weise von der Körpertemperatur abhängig[1, 17]. Je niedriger die Körpertemperatur, um so länger ist die Erstickungsdauer. Die Wirkung gleicher Grade des O_2-Mangels ist bei verschiedenen Umgebungstemperaturen verschieden, offenbar ebenfalls über die Beeinflussung der Körpertemperatur. Zeitreserve, Krampfschwelle und Überlebensdauer zeigen eine starke Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur. In den Versuchen Bunge's[3] an weißen Mäusen lag bei gleichen Aufstiegsbedingungen die Höhenkrampfschwelle bei einer Umgebungstemperatur von —10° bei 12900 m, bei einer Umgebungstemperatur von +40° bei 5300 m. Die Erfahrungen Gellhorns[9] — daß bei gleicher erniedrigter O_2-Spannung der Tod um so schneller eintritt je höher die Umgebungstemperatur — liegen in der gleichen Richtung. Auch am Menschen liegen Erfahrungen dieser Art vor. An Versuchspersonen, deren Zeitreserven unter den üblichen Bedingungen genau bekannt waren, beobachteten Gross u. Romberg[12], daß die Zeitreserve für 8000 m ganz erheblich anstieg, wenn sich die Versuchsperson vorher für längere Zeit bei sehr niedrigen Umgebungstemperaturen (—36° bis —42°) aufgehalten hatten. Dabei waren Senkungen der Rectaltemperatur bis zu —0,8° C eingetreten, die mittlere Körpertemperatur hatte dabei natürlich eine noch stärkere Erniedrigung erfahren.

Der günstige Einfluß einer von vornherein erniedrigten Körpertemperatur im O_2-Mangel ist somit experimentell hinreichend belegt. Die Steigerung der O_2-Aufnahme mit fallender Körpertemperatur ist auch hier als der entscheidende Hintergrund für alle diese Beobachtungen anzunehmen.

Von besonderer Bedeutung ist die Beobachtung, daß die Temperaturverstellungen bei Änderungen der O_2-Spannung mit Exponentialfunktionen erfolgen (siehe Abb. 3, 4 und 5). Daraus ergibt sich zwingend, daß in jedem Zeitpunkt der Einstellbewegung die Differenz zwischen dem gerade bestehenden Zustand und dem schließlich als Gleichgewicht erreichten Endzustand für die Änderungsgeschwindigkeit maßgebend ist. Die nach zwei oder mehrstündiger stetiger Einstellbewegung erreichte Temperatur ist also bereits in den ersten Schritten der Einstellbewegung determiniert.

Es ist noch wesentlich auf folgendes hinzuweisen. In dieser Untersuchung wurde die Annahme eingeführt, daß innerhalb eines bestimmten Intervalles mit fallender Körpertemperatur die O_2-Aufnahme im O_2-Mangel ebenso steigt wie bei normaler O_2-Spannung. Damit wäre die Möglichkeit der beobachteten Gleichgewichtslagen bei niedrigeren Temperaturen gegeben. Diese Annahme gibt aber keine Erklärung ab für die strenge Korrelation von O_2-Spannung und Körpertemperatur bei wieder zunehmenden O_2-Spannungen. Dazu ist mindestens eine weitere unabhängige Funktion notwendig, die mit steigender O_2-Spannung die Körpertemperatur wieder an den Normalpunkt heranführt.

Zusammenfassung.

In 130 Messungen an 54 Meerschweinchen wird gezeigt, daß eine strenge Beziehung besteht zwischen der O_2-Spannung der Atemluft und der Körpertemperatur. Mit fallender O_2-Spannung findet sich zunächst bei O_2-Spannungen von etwa 100 mm Hg eine Steigerung der Rectaltemperatur um 0,5—1,0°. Bei weiterer Erniedrigung der O_2-Spannung findet sich ein exponentieller Abfall der Rectaltemperatur, der in der Größenordnung von Stunden zu einer erniedrigten konstanten Temperatur führt. Die Erniedrigung der Körpertemperatur ist proportional der Erniedrigung der O_2-Spannung. Die niedrigsten konstanten Temperaturen, die unter diesen Bedingungen beobachtet wurden, lagen kurz oberhalb 34° und fanden sich bei O_2-Spannungen bis herunter zu 40 mm Hg (10000 m Höhe).

Literatur.

[1] Alders, N., u. E. Wertheimer: Z. exper. Med. **70**, 319 (1930). — [2] Bert, P.: La pression barometrique, Paris 1877. — [3] Bunge, J.: Luftfahrtmedizin **6**, 127 (1942). — [4] Chevillard, L., u. A. Mayer: Ann. Physiol. **11**, 225 (1935). — [5] Durig, A., H. Reichel u. a.: Denkschr. Acad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl. **86**, 1 (1909). — [6] Flückiger, Ed.: Rev. suisse Zool. **10**, 541 (1953). — [7] Flückiger, Ed., u. F. Verzàr: Helvet. physiol. Acta **10**, 349 (1952). — [8] Frank, E., u. K. Wezler: Pflügers Arch. **250**, 320 (1948). — [9] Gellhorn, E.: Amer. J. Physiol. **120**, 190 1937). — [10] Gellhorn, E., and A. Janus: Amer. J. Physiol. **116**, 327 (1936). — [11] Goebel, A., H. K. Fukas, W. Klante u. H. Imdahl: Z. exper. Med. **117**, 384 (1951). — [12] Gross, F., u. H. W. Romberg: Riv. Med. Aeron. **15**, 212 (1952). — [13] Hamon, Fr., S. Kolodny u. A. Mayer: Ann. Physiol. **11**, 211 (1935). — [14] Hasselbach, K. A., u. J. Lindhard: Biochem. Z. **74**, 1 (1916). — [15] Hülnhagen, O.: Luftfahrtmedizin **9**, 16 (1944). — [16] Jouk, K. Th.: Luftfahrtmedizin **9**, 26 (1944). — [17] Kreidl, A., u. A. Neumann: Pflügers Arch. **158**, 263 (1914). — [18] Lintzel, W.: Pflügers Arch. **227**, 693 (1931). — [19] Loewy, A.: Physiologie des Höhenklimas. Berlin 1932. — [20] Middlesworth, L. van: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **72**, 476 (1949). — [21] Pichotka, J., B. v. Kügelgen u. R. Dammann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **226**, 398 (1953). — [22] Pichotka, J., u. G. Caroli: In Vorbereitung. — [23] Rotschuh, K. E.: Pflügers Arch. **249**, 175 (1947). — [24] Wezler, K., u. E. Frank: Pflügers Arch. **250**, 439 (1948).

Dozent Dr. J. Pichotka, Freiburg/Br.,
Physiol. Institut der Albert-Ludwigs-Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 323—334 (1955).

Aus dem Physiologischen Institut der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. P. Hoffmann).

Die Bewegungen von Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme beim Wechsel zwischen normalen und erniedrigten Sauerstoffspannungen.

Von
J. Pichotka, O. Creutzfeldt und W. Höfler.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Oktober 1954.)

Erniedrigungen der Sauerstoffspannung bei normaler Umgebungstemperatur führen beim Meerschweinchen zu charakteristischen gesetzmäßigen Verstellungen der Rectaltemperatur[14]. Bei normaler O_2-Spannung ist eine Erniedrigung der Körpertemperatur innerhalb eines bestimmten Bereichs mit einer zunehmenden Steigerung der O_2-Aufnahme verbunden, beim Meerschweinchen im allgemeinen bis zu einem Maximum bei 34° C[13]. Die Senkung der Körpertemperatur im O_2-Mangel könnte in gleicher Weise einen Mechanismus enthalten, durch den wieder eine hinreichende O_2-Aufnahme ermöglicht wird. Um diese Möglichkeit zu prüfen, mußte zunächst festgestellt werden, ob das Verhalten der O_2-Aufnahme bei Erniedrigung der O_2-Spannung eine Beziehung zu den beschriebenen Änderungen der Körpertemperatur erkennen läßt. In der Literatur waren uns keine Ergebnisse zugänglich, die eine *Korrelation von Körpertemperatur und O_2-Aufnahme* unter diesen Bedingungen betrafen.

In der folgenden Untersuchung ist daher das gleichzeitige Verhalten von Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme beim Übergang von normaler zu erniedrigter O_2-Spannung und umgekehrt beim Übergang von erniedrigter zu normaler O_2-Spannung dargestellt.

Methodik.

Die zu den Messungen benutzten Meerschweinchen waren vor Versuchsbeginn längere Zeit unter kontrollierten Bedingungen. Alle Versuche erfolgten bei Normaldruck mit entsprechenden N_2—O_2-Gemischen. Die Gemische stellten wir jeweils aus dem handelsüblichen Stickstoff und Sauerstoff mit Hilfe eines genauen Manometers selbst her. Im wesentlichen wurde das Verhalten beim Wechsel zwischen Gemischen mit 20% und 8% O_2 untersucht. Zum Vergleich wurde eine kleinere Zahl von Messungen beim Wechsel zu geringeren oder höheren Sauerstoffspannungen (5,5 und 10% O_2) herangezogen.

Zur Messung des Gasaustausches befanden sich die Tiere in einer kleinen Kupferkammer mit einem aufschraubbaren Deckel aus Plexiglas. Die Kammer war so bemessen, daß Tiere von 360—440 g Gewicht bequem darin sitzen konnten,

aber ihre Stellung nicht zu ändern vermochten. Der Teil des Bodens, der dem Abstand von den Vorderpfoten bis zur Nasenspitze entspricht, war gegenüber dem übrigen Boden so erhöht, daß in der normalen Haltung der Kopf leicht auflag. Diese Bodenform verhindert erfahrungsgemäß Aussteigversuche der Tiere. Die Innenseite der Kammer war mit paraffiniertem dünnen Karton ausgekleidet, um den Wärmeübergang herabzusetzen. Die Tiere wurden ohne Widerstreben in die Kammer gesetzt und diese verschlossen.

Aus den Vorratsflaschen wurde ein konstanter Gasstrom durch die Kammer geschickt. Im allgemeinen wurde eine Durchströmungsgröße von 700—800 cm³/min gewählt. Dabei lag die O_2-Ausschöpfung des Gesamtstromes zwischen 1 und 2%. In den Extremlagen wurde dieser Wert nach beiden Seiten überschritten. Die Luftzufuhr lag unmittelbar vor der Schnauzenspitze, während die Ableitung beiderseits auf der Höhe der Kieferwinkel erfolgte. Dadurch lag nur der Kopf im Frischluftstrom und es konnte auch durch abnorme Stellungen keine Behinderung des Luftstromes erfolgen. Eine meßbare Rückatmung ließ sich bei der verwandten Durchströmungsgröße ausschließen.

Die Bestimmung der O_2-Aufnahme und der CO_2-Abgabe erfolgte mit dem Stoffwechselgerät von Hartmann und Braun. Das Gerät wurde für unsere Zwecke etwas modifiziert. Auf unsere Bitte hin prüfte das Herstellerwerk noch einmal die Genauigkeit der Anzeige bei geringen Ausschöpfungsgraden, wie sie im Verlauf dieser Untersuchung vorkamen. Dabei ließ sich feststellen, daß auch bei den geringsten in dieser Arbeit berücksichtigten Ausschöpfungen keine Abweichungen eintreten, die die Ablesegenauigkeit überschreiten. Die O_2-Aufnahme und die CO_2-Ausscheidung wurde alle Minuten abgelesen. Die Konstanz des Durchstromes konnte an der laufend mitregistrierten Ablesung der Gasuhr kontrolliert werden. Die Einstellzeit betrug etwa 2½ Min.

Alle Versuche wurden bei normaler O_2-Spannung eingeleitet. (N_2-O_2-Gemisch mit 20% O_2.) Rectaltemperatur und O_2-Aufnahme wurden dabei registriert, bis für ½ Std eine konstante O_2-Aufnahme bei konstanter Rectaltemperatur vorlag. Dann wurden Tierkammer und Analysengerät getrennt. Die Tierkammer wurde weiterhin mit dem gleichen Gemisch durchströmt, das Analysengerät dagegen mit dem für die nächste Versuchsphase bestimmten Gemisch mit niedriger O_2-Spannung, d. h. zumeist mit 8% O_2. Erst wenn der Analysator bei dem neuen Gemisch eine zuverlässige Konstanz des Nullpunkts erreicht hatte, wurde auch die Tierkammer damit beschickt und die O_2-Aufnahme bei der niedrigeren O_2-Spannung fortlaufend gemessen. Beim Übergang auf die höhere O_2-Spannung wurde in gleicher Weise verfahren. Auf diese Weise wurde jeweils vor dem Umschalten auf eine andere O_2-Spannung für etwa 20 min die O_2-Aufnahme nicht registriert. Aus der allgemeinen Erfahrung in dieser Versuchsanordnung und aus dem Verhalten der Rectaltemperatur konnte geschlossen werden, daß sich die O_2-Aufnahme in dieser Periode nicht wesentlich änderte.

Durch die in den Leitungen und in der Tierkammer enthaltene Gasmenge konnte in der ersten Phase nach dem Umschalten ein falscher Wert der Sauerstoffaufnahme vorgetäuscht werden. Obwohl der Totraum aufs engste bemessen war, konnte der dadurch bewirkte Fehler in den ersten Minuten nach dem Umschalten beträchtlich sein. Das war um so wesentlicher, als die dadurch vorgetäuschte Änderung der O_2-Aufnahme in die gleiche Richtung ging, wie die durch die Versuchsbedingungen verursachte. Zweiminutiges schnelles Durchströmen der Anordnung mit dem neuen Gemisch schien in Kontrollversuchen diese Fehlermöglichkeit völlig zu beseitigen. In der Auswertung der Versuche ist aus Vorsichtsgründen die O_2-Aufnahme jeweils in den ersten 10 min nach dem Übergang auf die neue O_2-Spannung nicht mitbenutzt. Aus Kontrollmessungen ergab sich, daß am Ende der

10 min-Periode auch ohne Änderung der Durchströmung der durch Zumischung entstandene Fehler 3—5% der Anzeige nicht überschreiten konnte und daß dieser Fehler weiterhin schnell abnahm. In Anbetracht der in diesen Versuchsphasen tatsächlich beobachteten Änderung ist dieser mögliche Fehler sehr klein und zu vernachlässigen.

Es erwies sich als notwendig, bei diesen länger dauernden Experimenten in regelmäßigen Intervallen die Nullpunktskonstanz des Analysators zu überprüfen und gegebenenfalls die entsprechenden Korrekturen der Nullpunkte vorzunehmen. Die dabei manchmal beobachteten geringen Abweichungen ließen sich durch rechnerische Korrekturen leicht ausgleichen. Bei einem längeren unkontrollierten Gebrauch des Analysators können dagegen Nullpunktsverschiebungen auftreten, die die Experimente wertlos machen. Die Umstellung des Analysators auf Batteriebetrieb brachte für die Nullpunktskonstanz keine Vorteile.

Die Registrierung der Rectaltemperatur geschah wie in früheren Untersuchungen[14] fortlaufend während des ganzen Versuchs.

Ergebnisse.

Die Einstellung der Sauerstoffaufnahme nach Änderung der Sauerstoffspannung wurde in 63 Experimenten verfolgt. Die hier angegebenen Verläufe beziehen sich ausschließlich auf eine Raumtemperatur von 20 bis 22° C und einen Wechsel zwischen O_2-Spannungen der Atemluft von 150 und 60 mm Hg O_2 (20% und 8% O_2) in beiden Richtungen. Die Sauerstoffaufnahme bei den in diesen Experimenten bestehenden Bedingungen der Wärmeabgabe und bei normaler O_2-Spannung liegt weit über den bei etwa 30° C Umgebungstemperatur gemessenen Minimalumsätzen. Sie beträgt im Durchschnitt etwa 2,8 cm^3 O_2 pro 100 g und Minute gegenüber Minimalumsätzen von 1,0—1,25 cm^3 O_2 pro 100 g und Minute[6, 15].

Das Verhalten der Sauerstoffaufnahme unter den beschriebenen experimentellen Bedingungen ist in der Abb. 1 in einem Übersichtsdiagramm zusammengefaßt. Dem Diagramm liegen 14 gleiche Versuche an 14 Tieren von durchschnittlich 400 g (360—445 g) zugrunde. Der Verlauf der O_2-Aufnahme ist nach dem Übergang auf die niedrigere O_2-Spannung für 100 min dargestellt. In dieser Zeit wird im Mittelwert und in allen Einzelverläufen der O_2-Aufnahme ein konstanter Wert erreicht. Nach der Wiederherstellung der normalen O_2-Spannung ist die Registrierung über weitere 80 min durchgeführt. Die charakteristische Bewegung der Sauerstoffaufnahme nach dem Umschalten auf die höhere O_2-Spannung endet innerhalb dieser Periode ebenfalls in einen konstanten Wert, der mit dem Ausgangswert der O_2-Aufnahme bei normaler O_2-Spannung identisch ist.

Die dargestellten Experimente sind nicht alle nach dem gleichen zeitlichen Schema geführt. Die Dauer der Periode erniedrigter O_2-Spannung ist in den verschiedenen Experimenten verschieden und in den meisten Fällen erheblich länger als 100 min. Daher sind die Ergebnisse als Ausschnitte aus Experimenten mit verschiedenem zeitlichen Verlauf an den Umschaltpunkten zur niedrigeren und wieder zur normalen O_2-Spannung synchronisiert. Die in dem Diagramm benutzten Werte

der O_2-Aufnahme sind alle Einzelablesungen, die auf die geraden Minuten fallen. Sie stellen also die Hälfte der in den abgebildeten Versuchsabschnitten abgelesenen Werte dar. Die Mittelwertskurve der O_2-Aufnahme ist durch übergreifende Mittelung über drei Werte ausgeglichen. Die Mittelwerte der O_2-Aufnahme vor Versuchsbeginn sind nicht ausgeglichen und stellen somit ein Maß für die spontane Streuung der Mittelwerte unter konstanten Bedingungen dar. Wegen der geringen Differenz im Gewicht der Tiere (360—445 g) ist die Sauerstoffaufnahme für das ganze Tier angegeben und die übliche Umrechnung auf ein Einheitsgewicht unterblieben.

Vor dem Beginn des Versuches beträgt die durchschnittliche O_2-Aufnahme in der Abb. 1 *11,7* cm^3 O_2 pro Tier und Minute. Nach dem Umschalten auf 8% O_2 stellt sich ein meßbarer stetiger Wert für die O_2-Aufnahme frühestens nach 5 min, in einigen Fällen aber auch erst nach

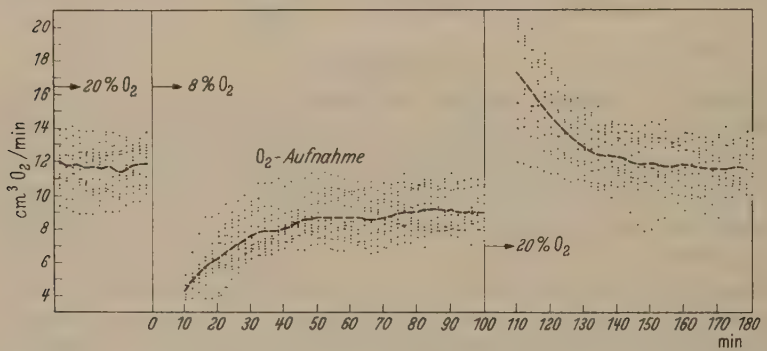


Abb. 1. Darstellung der O_2-Aufnahme aus 14 Versuchen beim Wechsel von 20% O_2 nach 8% O_2 und wieder nach 20% O_2. Die einzelnen Punkte des Streudiagramms bedeuten die minutliche O_2-Aufnahme. Die eingezeichneten Linien stellen den Mittelwertsverlauf dar. Nach dem Umschalten auf 8% O_2 ist die O_2-Aufnahme zunächst auf praktisch unmeßbare Werte abgefallen und steigt dann in exponentieller Bewegung wieder an. Der entgegengesetzte Verlauf findet sich beim erneuten Übergang auf 20% O_2. In den Mittelwertskurven wird jeweils nach 50 min eine annähernd konstante O_2-Aufnahme erreicht.

10—15 min ein. In den hier dargestellten Experimenten erreichte die O_2-Aufnahme nach 10 min einen durchschnittlichen Wert von *4,3* cm^3 O_2 pro Minute. Das ist wenig mehr als ein Drittel der O_2-Aufnahme bei normaler O_2-Spannung. Die O_2-Aufnahme steigt dann im weiteren Verlauf zunächst steil und dann zunehmend flacher an. In einem Teil der Versuche wird 40—50 min nach dem Umschalten auf die niedrigere O_2-Spannung eine praktisch konstante O_2-Aufnahme erreicht, in einem anderen Teil erst nach 80—100 min. Die Mittelwertskurve der O_2-Aufnahme in der Abb. 1 läßt die Zusammensetzung aus diesen Gruppen erkennen. Sie erreicht nach etwa 50 min eine zunächst konstante Höhe der O_2-Aufnahme von *8,7* cm^3 O_2 pro Minute. Bei 80 min erfolgt ein geringer, aber deutlicher Anstieg auf *9,1* cm^3 O_2 pro Minute. Dieser Wert liegt um etwa 20% unter dem Ausgangswert, der bei sonst gleichen Bedingungen und normaler O_2-Spannung registriert wurde.

Nach dem erneuten Umschalten auf die normale O_2-Spannung liegt die O_2-Aufnahme zunächst bei weit übernormalen Werten. Zumeist ist schon 5 min nach dem Umschalten eine stetige O_2-Aufnahme erreicht. 10 min nach dem Umschalten beträgt die O_2-Aufnahme der hier dargestellten Versuche im Mittel *17,3* cm^3 O_2 pro Minute. Sie liegt damit mit *90*% über dem Wert, der gerade vorher bei der niedrigeren O_2-Spannung erreicht wurde und auch noch erheblich über der O_2-Aufnahme zu Beginn des Versuches (*11,7* cm^3). Im weiteren Verlauf sinkt die O_2-Aufnahme mit einer steilen Exponentialbewegung ab und mündet schließlich in den gleichen Wert, der zu Beginn des Versuches bestand. Die zeitlichen Verhältnisse des Abfalls der O_2-Aufnahme beim Übergang auf die höhere O_2-Spannung sind von der gleichen Größenordnung, wie die des Anstiegs der O_2-Aufnahme nach Erniedrigung der O_2-Spannung. Im ganzen scheint die Einstellung der O_2-Aufnahme auf einen stetigen Wert nach Erhöhung der O_2-Spannung etwas schneller zu erfolgen als nach Erniedrigung. Das würde mit der Erfahrung übereinstimmen, daß die Einstellung der Temperatur auf einen konstanten Wert bei Erhöhung der O_2-Spannung meist schneller eintritt als bei Erniedrigung[14].

Die statistische Realität der Bewegungen der O_2-Aufnahme nach Änderung der O_2-Spannung — wie sie in den Mittelwerten der Abb. 1 dargestellt sind — läßt sich leicht nachweisen. Zu diesem Zweck wurden die Meßwerte für die Sauerstoffaufnahme in den verschiedenen charakteristischen Phasen der Einstellbewegung verglichen. Die Wahrscheinlichkeit für die Identität der Meßwerte in den verschiedenen Perioden war nach der t-Verteilung in *allen* verglichenen Gruppen außerordentlich gering. (In allen Fällen $P < 0{,}001$.) Die beschriebenen Bewegungen der O_2-Aufnahme sind also statistisch real. Weiterhin ist die im Gleichgewicht erreichte O_2-Aufnahme bei 8% O_2 mit hoher Wahrscheinlichkeit niedriger als bei gleichen Umgebungsbedingungen und 20% O_2. In der Abb. 2 ist der gleichzeitige Verlauf von O_2-Aufnahme und Rectaltemperatur bei Änderung der O_2-Spannung in einem Einzelexperiment dargestellt.

Die in der Abb. 2 dargestellte gegenläufige Bewegung von O_2-Aufnahme und Rectaltemperatur fand sich in allen Experimenten ohne Ausnahme. Wie in der voraufgehenden Untersuchung erreichten die Rectaltemperaturen konstante Werte entweder im Intervall zwischen 36 und 37° oder zwischen 34 und 35°. Der mit diesem Temperaturabfall verbundene Anstieg der O_2-Aufnahme ging größenordnungsmäßig auf gleiche Werte, unabhängig davon, auf welcher Höhe sich die Rectaltemperatur einstellte. Bei der Einstellung der Temperatur im tieferen Intervall fand sich zumeist eine deutliche Zweistufigkeit der Einstellbewegungen von O_2-Aufnahme und Rectaltemperatur (siehe Abb. 2). Wenn sich die Rectaltemperatur im höheren Intervall einstellte, erfolgte dies für beide Größen mit einer einfachen Bewegung.

In einer Reihe von Fällen wurden bei 8% O_2 keine konstanten Rectaltemperaturen mehr eingestellt, vielmehr fiel die Temperatur stetig weiter, ohne die Tendenz zur Einstellung auf einen festen Wert erkennen zu lassen. Die Experimente mit diesem Verlauf der Rectaltemperatur zeigten charakteristische gemeinsame Züge im Verhalten der O_2-Aufnahme. Die Tiere dieser Gruppe wiesen bereits unter den Ausgangsbedingungen bei 20% O_2 die niedrigsten beobachteten O_2-Aufnahmen auf. Nach dem Um-

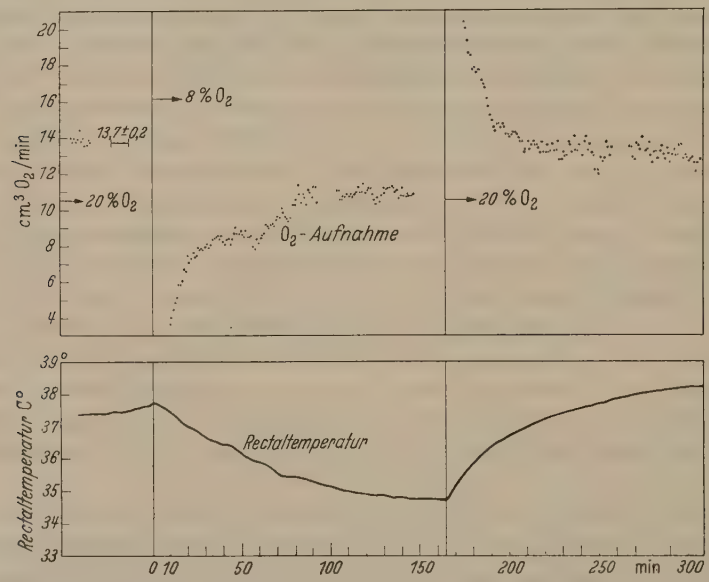


Abb. 2. Verlauf von Sauerstoffaufnahme und Rectaltemperatur unter gleichen Bedingungen wie in Abb. 1. Einzelexperiment. Bei der Einstellung auf die erniedrigte O_2-Spannung fällt die Rectaltemperatur mit einer charakteristischen Bewegung ab, während gleichzeitig die zunächst erniedrigte O_2-Aufnahme fast spiegelbildlich dazu ansteigt. Beide Größen erreichen zur gleichen Zeit Konstanz auf dem neuen Niveau. Einstellung der Rectaltemperatur für 8% O_2 bei 34,8°. Nach Wiederherstellung der normalen O_2-Spannung findet sich das umgekehrte Verhalten.

schalten erfolgte ein relativ schneller Anstieg auf konstante Werte der O_2-Aufnahme, aber diese Werte waren ebenfalls die niedrigsten, die beobachtet wurden. Die Steilheit des Temperaturabfalles verminderte sich, solange die O_2-Aufnahme anstieg. Die beim Erreichen der konstanten O_2-Aufnahme bestehende Geschwindigkeit des Temperaturabfalls blieb im weiteren Verlauf des Experiments praktisch unverändert bestehen. Das ganze Verhalten deutete darauf hin, daß die hier erreichte O_2-Aufnahme für das betreffende Tier unter den bestehenden Umständen die maximal mögliche war. Eine Einstellung auf eine Gleichgewichtslage war nicht mehr möglich, weil die Mechanismen für die O_2-Aufnahme an diesem Punkt limitiert waren. Für diese Auffassung spricht auch, daß der

erreichte maximale Wert der O_2-Aufnahme in diesen Experimenten mit einer außerordentlich geringen Schwankung aufrechterhalten wurde, im Gegensatz zu den meist deutlich periodischen Schwankungen der O_2-Aufnahme bei vollständiger Einstellung auf eine Gleichgewichtslage. Bezeichnend für das Verhalten dieser Gruppe war weiterhin die geringe Steigerung der O_2-Aufnahme nach Wiederherstellen der normalen O_2-Spannung. Ein Beispiel für dieses Verhalten findet sich in Abb. 3.

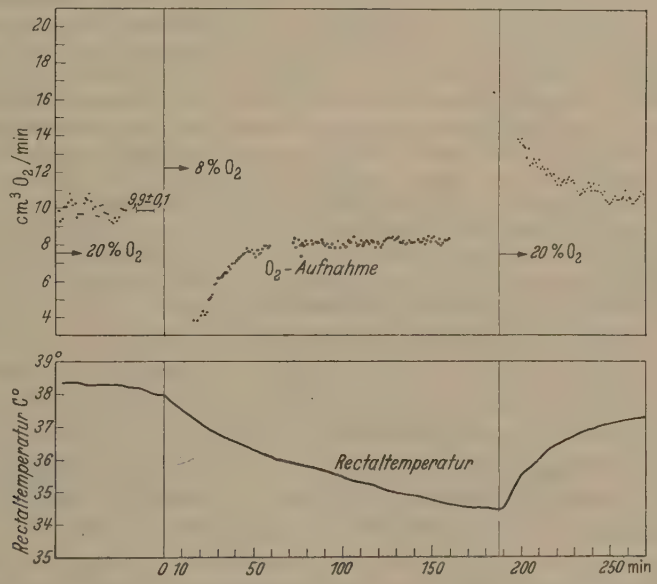


Abb. 3. Gleiche Bedingungen wie in Abb. 1 und 2. O_2-Aufnahme unter Ausgangsbedingungen 9,9 cm³/min gegenüber einem Mittelwert für 400 g schwere Tiere von 11,7 cm³/min. Nach dem Umschalten auf 8% O_2 steigt die zunächst erniedrigte O_2-Aufnahme auf etwa 8 cm³/min. Der anfänglich steile Temperaturabfall flacht sich etwas ab, geht aber nach Erreichen der konstanten O_2-Aufnahme mit einer stetigen Neigung weiter. Tiere dieser Gewichtsklasse erreichten bei 8% O_2 im Temperaturgleichgewicht eine O_2-Aufnahme von 10—11 cm³/min.

Besprechung der Ergebnisse.

Änderungen der O_2-Spannung der Atemluft bedingen an sich kurzfristige Änderungen der O_2-Aufnahme, bis der O_2-Gehalt der Alveolarluft und des Blutes sich auf die neue Situation eingestellt hat. Diese Änderungen bestehen in einer verminderten O_2-Aufnahme bei Herabsetzung der O_2-Spannung und in einer vermehrten Aufnahme beim Übergang auf erhöhte O_2-Spannungen. *Richtungsmäßig* stimmen also diese Veränderungen mit den von uns beobachteten überein, und sie sind auch zu ihrer Erklärung herangezogen worden. *Quantitativ* sind dagegen die durch Änderung des O_2-Gehaltes von Alveolarluft und Blut bedingten

Verschiebungen der O_2-Aufnahme für die in dieser Untersuchung dargestellten Bewegungen der O_2-Aufnahme bedeutungslos.

Das ergibt sich für das Blut aus der folgenden Überlegung: Ein Meerschweinchen von 400 g Gewicht hat etwa 30 cm^3 Blut. Der O_2-Gehalt des vollgesättigten Blutes beträgt etwa 6 cm^3. Um diesen Betrag von 6 cm^3 könnte maximal die O_2-Aufnahme durch die Änderung der Sättigung des Blutes beeinflußt werden bei Änderungen der O_2-Spannung zwischen 0 und 150 mm Hg. Tatsächlich kommt in unseren Versuchen nur ein Bruchteil dieses Wertes in Frage. Die durch die Änderungen des O_2-Gehaltes der Alveolarluft bedingten Änderungen der O_2-Aufnahme sind von der gleichen Größenordnung. In den in der Abb. 1 dargestellten Mittelwerten der O_2-Aufnahme liegt das Defizit bis zur 50. min bei mindestens 150 cm^3 O_2, wenn alle Faktoren zuungunsten unserer These gerechnet werden. Der Anteil an der verminderten O_2-Aufnahme, der durch die Änderung des O_2-Gehaltes von Alveolarluft und Blut bedingt ist, ist somit in den hier dargestellten Experimenten zu vernachlässigen. Gegen eine Bedeutung dieser Größen für die beobachteten Bewegungen der O_2-Aufnahme spricht außerdem der ausgedehnte zeitliche Verlauf.

Die Einstellung unserer Analysenapparatur erfolgte in etwa 2½ min. Diese Einstellzeit ist in Anbetracht der beobachteten langsamen Bewegungen der Sauerstoffaufnahme von keiner Bedeutung für den gemessenen Verlauf. Das gilt insbesondere, da jeweils die ersten 10 min nach dem Übergang auf die geänderte O_2-Spannung nicht berücksichtigt sind. Eine rechnerische Korrektur des Verlaufs unter Berücksichtigung der Einstellzeit bringt keine Vorteile.

Die in dieser Untersuchung beschriebenen Bewegungen der O_2-Aufnahme nach dem Übergang auf niedrigere oder höhere O_2-Spannungen zeigen formal das charakteristische Verhalten von Einstellbewegungen geregelter Größen. Das Ergebnis dieser Einstellbewegungen ist eine O_2-Aufnahme, die innerhalb eines bestimmten Bereichs weitestgehend unabhängig von der O_2-Spannung ist. Diese unabhängige konstante oder annähernd konstante O_2-Aufnahme ist zweifellos das Resultat eines aktiven Vorgangs. Die O_2-Aufnahme ist nicht an sich spannungsunabhängig. Das erweist sich aus ihrer Größe unmittelbar nach der Änderung der O_2-Spannung. In einer erstaunlich langsamen Exponentialbewegung stellt sich dann in einem Zeitraum von 40—100 min ein zumindest für Stunden konstanter Wert der O_2-Aufnahme ein. Die Größe der O_2-Aufnahme, die als Resultat der Einstellbewegung erreicht wird, spielt für das hier behandelte Problem nur eine unwesentliche Rolle. Hier ist der *Einstellvorgang* von wesentlichem Interesse.

Es muß bei der Atmung des 20%igen O_2-Gemisches eine Einstellung des Organismus bestanden haben, die nach dem Übergang auf 8% O_2 zunächst eine völlig unzureichende O_2-Aufnahme mit sich brachte. Durch diese unzureichende O_2-Aufnahme werden Mechanismen in Gang gesetzt, die die O_2-Aufnahme mit einem charakteristischen zeitlichen Verlauf wieder auf Größen bringen, die zumindest für eine bestimmte Dauer eine Gleichgewichtslage ermöglichen. Am Ende dieses Einstellvorganges ist in bezug auf die O_2-Aufnahme eine völlig andere Situation erreicht, als sie im Moment des Überganges von der normalen zur erniedrigten O_2-Spannung bestand. Das erweist sich beim erneuten Übergang auf normale O_2-Spannung. Hier findet sich jetzt eine O_2-Aufnahme, die sowohl weit über den Werten liegt, die gerade zuvor bei der erniedrigten O_2-Spannung

bestanden, als auch über den Werten der O_2-Aufnahme bei normaler O_2-Spannung vor der Einstellung auf die niedrigere O_2-Spannung. In häufigen Beispielen ist die O_2-Aufnahme nach dem Zurückschalten auf die normale O_2-Spannung mehr als doppelt so hoch wie in den beiden vorhergehenden Versuchsphasen. Mit diesem Vorgang der Einstellung auf die erniedrigte O_2-Spannung, der zu einem charakteristischen Anstieg der O_2-Aufnahme bei erniedrigter O_2-Spannung geführt hat, ist also ein Zustand eingetreten, in dem bei normaler O_2-Spannung die O_2-Aufnahme viel höher ist als normal. Dieser Zustand überdauert die Periode der erniedrigten O_2-Spannung beträchtlich, wenn schon die erhöhte O_2-Aufnahme insgesamt mit einer Exponentialbewegung auf die normalen Werte abfällt. Der Endwert der O_2-Aufnahme, der durch diese Einstellbewegung erreicht wird, ist identisch mit der O_2-Aufnahme bei gleichen Bedingungen zu Beginn des Versuchs.

Die Einstellung einer konstanten O_2-Aufnahme bei Änderung der O_2-Spannung in beiden Richtungen ist also ein Vorgang, der erhebliche Zeit erfordert und der für den Organismus als Ganzes die Bedingungen für die Sauerstoffaufnahme verändert.

In der voraufgehenden Untersuchung[14] wurde beschrieben, daß bei Änderungen der O_2-Spannung die Körpertemperatur charakteristische Verstellungen erfährt. Diese Verstellungen der Körpertemperatur erschienen sinnvoll unter der Annahme, daß bei erniedrigter ebenso wie bei normaler O_2-Spannung eine Erniedrigung der Körpertemperatur innerhalb eines bestimmten Intervalles unterhalb der Normaltemperatur mit einer Erhöhung der O_2-Aufnahme einherginge. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen die Berechtigung der Annahme. Es findet sich in allen Fällen eine gegenläufige Bewegung von O_2-Aufnahme und Körpertemperatur. Eine Änderung der O_2-Aufnahme ohne gleichzeitige Änderung der Körpertemperatur haben wir in mehr als 60 Beobachtungen der Einstellung des Organismus auf eine veränderte O_2-Spannung nicht gefunden. In der Phase der erniedrigten O_2-Spannung sinkt die Körpertemperatur und steigt gleichzeitig die anfänglich stark erniedrigte O_2-Aufnahme; in der Phase der wiedererhöhten O_2-Spannung steigt die Körpertemperatur und sinkt gleichzeitig die im Beginn stark erhöhte O_2-Aufnahme.

Die Koppelung der Änderungen der O_2-Aufnahme und der Körpertemperatur ist im übrigen nicht absolut. Aber gerade die beobachtete Form der Divergenz dieser beiden Größen — nämlich, daß trotz des Wiederanstiegs der O_2-Aufnahme auf einen konstanten Wert keine konstante Temperatur mehr erreicht wird —, spricht für einen Regelzusammenhang.

Wenn wir voraussetzen, daß die O_2-Aufnahme eine geregelte Größe ist, so ist damit zugleich festgestellt, daß sie in einer bestimmten Situation einen durch die Eigenschaften des Regelsystems bedingten maximalen Wert hat. Wenn diese maximale Leistung des Regelsystems unzureichend ist, so ist kein stabiler Zustand mehr möglich[12]. Diese für ein geregeltes System charakteristische Situation besteht z. B. bei einem Thermostaten, dessen Heizleistung unzureichend ist, um in einer bestimmten Situation den Wärmeentzug zu decken. Die Temperatur dieses Thermostaten fällt, obwohl das Regelsystem intakt ist und mit maximaler Leistung arbeitet[12].

Die statistische Prüfung des Ergebnisses ist gegenstandslos. In mehr als 60 Beobachtungen fand sich in allen Fällen die beschriebene eindeutige negative Korrelation von Änderung der O_2-Aufnahme zu Änderung

der Körpertemperatur. Diese Beziehung ist statistisch sicher real. Dazu ist gleich einschränkend zu sagen, daß diese statistische Feststellung lediglich eine Parallelität der beiden Ereignisse begründet, aber keine Kausalität. Zudem ist aus der Tatsache der Korrelation von Körpertemperatur und O_2-Aufnahme kein Schluß auf die Mechanismen möglich, die dieser Korrelation zugrunde liegen.

Die Ergebnisse der Untersuchung von Goebel u. Mitarb.[5] sind mit den unseren nicht vergleichbar. In dieser Untersuchung wurde an Ratten O_2-Aufnahme und Körpertemperatur im O_2-Mangel (7% O_2) gemessen. Aber die Senkung der O_2-Aufnahme wurde durch Rückatmung kontinuierlich herbeigeführt, wodurch die in unserer Arbeit beschriebenen Einstellbewegungen der O_2-Aufnahme im wesentlichen verwischt werden müssen. Darüber hinaus ist in den ersten 30 min —, in denen der entscheidende Teil der Einstellbewegung liegt —, keine Messung der O_2-Aufnahme erfolgt. Der für die Interpretation der Beziehung zwischen O_2-Aufnahme und Körpertemperatur wesentliche Anstieg der O_2-Aufnahme mit fallender Temperatur zu Beginn des O_2-Mangels ist in dieser Untersuchung nicht erfaßt. Die vor dem Versuch für 12 Std hungernden Tiere erreichen außerdem im O_2-Mangel keine Konstanz von O_2-Aufnahme und Körpertemperatur für wesentliche Perioden. Goebel u. Mitarb. kommen zu dem Ergebnis, daß im Sauerstoffmangel der O_2-Verbrauch mit der Körpertemperatur nach der RGT-Regel abfalle. Dieser Schluß ist zweifellos falsch, wie sich aus unseren Experimenten, aber auch aus grundsätzlichen Erwägungen ergibt.

Aus zahlreichen experimentellen Untersuchungen geht hervor, daß zumindest für eine Reihe von Warmblütern eine weitgehende Unabhängigkeit der O_2-Aufnahme von der O_2-Spannung besteht. Diese Erfahrung gilt unter bestimmten Einschränkungen selbst noch für O_2-Spannungen, die zu schweren Mangelerscheinungen oder zum Tode führen[4, 11]. Im Rahmen der Diffusionstheorie wird dieses Verhalten so interpretiert, daß das durch die Transportmechanismen unterhaltene Diffusionsgefälle am Verbrauchsort immer hinreichend sei, um die erforderliche O_2-Menge zu transportieren, und daß damit der Verbrauch im Gewebe zur limitierenden Größe werde.

Aus den in dieser Untersuchung berichteten Experimenten geht hervor, daß Änderungen der O_2-Spannung zu charakteristischen und gesetzmäßigen Bewegungen der O_2-Aufnahme führen, die schließlich in einen konstanten Wert münden. Die Konstanz oder annähernde Konstanz der O_2-Aufnahme bei verschiedenen O_2-Spannungen ist mithin das Resultat von aktiven Einstellbewegungen des Organismus. Dieser Schluß steht nicht in Einklang mit der üblichen Auffassung. Die experimentellen Beobachtungen, auf denen dieser Schluß aufgebaut ist, sind aber schon in einer Reihe von früheren Untersuchungen enthalten, ohne daß sie eine wesentliche Beachtung gefunden hatten.

Missiuro u. Mitarb.[10] sowohl als auch Jouk[7] beobachteten am Menschen, daß nach dem Übergang auf eine erniedrigte O_2-Spannung eine zunächst erniedrigte O_2-Aufnahme in charakteristischer Weise wieder anstieg. Auch in der Darstellung von Frank u. Wezler[3] scheint ein solcher Anstieg der O_2-Aufnahme bei stärkeren Erniedrigungen der O_2-Spannung enthalten zu sein, wenn auch der erste hier gemessene Wert 15 min nach dem Umschalten bereits höher ist als normal. Die zeitliche Größenordnung der Einstellung einer konstanten O_2-Aufnahme nach

Änderung der O_2-Spannung scheint in den zitierten Arbeiten unseren am Meerschweinchen erhobenen Werten (50—100 min) zu entsprechen. Es ist bemerkenswert, daß Wezler u. Frank[16] im Sauerstoffmangel beim Menschen Änderungen der Kreislaufgrößen beobachtet haben, die in etwa gleichen Zeiten ablaufen, wie die hier beschriebene Einstellung der O_2-Aufnahme. Die Änderungen bestanden vor allem in einer Zunahme des Minutenvolumens und einer Abnahme des peripheren Widerstandes. Durch diese Änderungen können die Bedingungen für die O_2-Aufnahme im O_2-Mangel zweifellos vorteilhaft beeinflußt werden. Ob allerdings dadurch die großen beobachteten Differenzen im Verlauf dieser Einstellbewegung der O_2-Aufnahme erklärt werden können, erscheint zweifelhaft.

Die erhöhte O_2-Aufnahme nach dem Übergang von der erniedrigten auf die normale O_2-Spannung stellt in ihrer Summe die Sauerstoffschuld nach Hypoxämie in der Literatur dar. Es wird zumeist angenommen, daß dieser Mehrverbrauch an Sauerstoff bedingt sei durch die Anhäufung von Stoffwechselprodukten eines durch O_2-Mangel unvollständigen Abbaues, insbesondere von Milchsäure. Diese einfache Form der Auffassung dieses Phänomens ist sicherlich nicht richtig. Wie aus experimentellen Untersuchungen hervorgeht, kann eine erhebliche O_2-Schuld bestehen, ohne daß eine meßbare Erhöhung der Milchsäure eingetreten ist[1, 2, 8, 9]. In der allgemeinsten Form kann man feststellen, daß die Sauerstoffschuld bedingt ist durch die im O_2-Mangel erfolgte Veränderung von Größen, die bei normaler O_2-Versorgung vom Organismus auf bestimmten Werten gehalten werden. Dazu muß dem Betrag nach vor allem die Herabsetzung der Körpertemperatur im O_2-Mangel gehören. Wie aus unseren Darstellungen hervorgeht, dient der erhöhte O_2-Verbrauch nach dem Übergang auf die normale O_2-Spannung dazu, die normale Körpertemperatur wiederherzustellen. Der Abfall der erhöhten O_2-Aufnahme geht direkt proportional der Annäherung an die normale Körpertemperatur. Eine erhöhte O_2-Aufnahme nach Erreichung der normalen Körpertemperatur haben wir nicht beobachtet.

Goebel u. Mitarb. berechneten für ihre Messungen an Ratten, daß die abgetragene Sauerstoffschuld ihrem Betrag nach gerade die Wiederaufwärmung des Körpers deckte[5]. Die Sauerstoffschuld nach Abkühlung müßte eine ähnliche oder gleiche Situation darstellen und hier die Vergleichsmaße liefern. Unabhängig davon, welches Gewicht man den einzelnen Faktoren im Gesamtbetrag der O_2-Schuld zuteilt, ist es bemerkenswert, daß der Abfall der O_2-Aufnahme von dem stark erhöhten Wert, der nach der Wiederherstellung der normalen O_2-Spannung besteht, mit einer gleichen Bewegung und in gleichen Zeiten erfolgt wie der Anstieg der O_2-Aufnahme im Verlaufe der Einstellung auf eine erniedrigte O_2-Spannung.

Zusammenfassung.

An Meerschweinchen wurde das Verhalten von O_2-Aufnahme und Rectaltemperatur beim Übergang von normaler zu erniedrigter ($8\%O_2$) und von erniedrigter zu normaler O_2-Spannung untersucht.

Nach dem Übergang auf die niedrigere O_2-Spannung fand sich zunächst eine praktisch unmeßbare Sauerstoffaufnahme, die mit einer

Exponentialbewegung auf einen für Stunden konstanten Wert anstieg. Die Zeit für diesen Anstieg lag in den einzelnen Experimenten zwischen 50 und 100 min. Nach dem erneuten Übergang auf normale O_2-Spannung fand sich zunächst eine O_2-Aufnahme, die über dem Doppelten der normalen Werte liegen konnte. Diese hohe O_2-Aufnahme fiel ebenfalls mit einer Exponentialbewegung ab auf den normalen Anfangswert.

Gleichzeitig mit den Bewegungen der O_2-Aufnahme fanden sich Verstellungen der Rectaltemperatur. Der Wiederanstieg der erniedrigten O_2-Aufnahme in der Phase erniedrigter O_2-Spannung war begleitet von einem Abfall der Rectaltemperatur, der in gleichen Zeiten in einen konstanten Wert mündete wie die ansteigende O_2-Aufnahme. Nach Wiedererhöhung der O_2-Spannung fand sich das umgekehrte Verhalten.

Aus diesen Messungen ergibt sich, daß die beobachtete Unabhängigkeit der O_2-Aufnahme bei verschiedenen O_2-Spannungen Resultat einer Regelung ist.

Literatur.

[1] Dill, D. B., A. Fölling, S. A. Obery, A. M. Pappenheimer jr. and J. H. Talbott: J. of Physiol. **71**, 47 (1931). — [2] Edwards, H. T.: Amer. J. Physiol. **116**, 367 (1936). — [3] Frank, E., u. K. Wezler: Pflügers Arch. **250**, 320 (1948). — [4] Gesell, R., H. Krueger, H. Nicolsen, Ch. Brassfield and M. Pelecovich: Amer. J. Physiol. **100**, 202 (1932). — [5] Goebel, A., H. K. Fukas, W. Klante u. H. Imdahl: Z. exper. Med. **117**, 384 (1951). — [6] Herrington, L. P.: Amer. J. Physiol. **129**, 123 (1940). — [7] Jouk, K. Th.: Luftfahrtmedizin **9**, 26 (1944). — [8] Margaria, R. E., H. T. Edwards and D. B. Dill: Amer. J. Physiol. **106**, 689 (1933). — [9] Margaria, R. E., and H. T. Edwards: Amer. J. Physiol. **107**, 681 (1934). — [10] Missiuro, W., S. Niemierko, A. Perlberg u. B. Pawlak: Arbeitsphysiologie **10**, 561 (1939). — [11] Opitz, E., u. M. Schneider: Erg. Physiol. **46**, 126 (1950). — [12] Pichotka, J., B. v. Kügelgen u. R. Dammann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **220**, 398 (1953). — [13] Pichotka, J., u. G. Caroli: In Vorbereitung. — [14] Pichotka, J., O. Creutzfeldt u. W. Höfler: Im Druck. — [15] Verzàr, F., u. V. Wahl: Biochem. Z. **240**, 37 (1931). — [16] Wezler, K., u. E. Frank: Pflügers Arch. **250**, 249 (1948).

Dozent Dr. J. Pichotka, Freiburg/Br.,
Physiolog. Institut d. Albert-Ludwigs-Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 335—341 (1955).

Aus dem Physiologischen Institut der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. P. Hoffmann).

Die Bewegungen der Körpertemperatur und der Sauerstoffaufnahme bei veränderlicher Wärmeabgabe im Sauerstoffmangel.

Von
J. Pichotka, O. Creutzfeldt und W. Höfler.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Oktober 1954.)

In voraufgehenden Untersuchungen wurde festgestellt, daß bei der Einstellung des Organismus auf *erniedrigte O_2-Spannungen* charakteristische Verstellungen der Körpertemperatur erfolgen, die in einem offenbaren Zusammenhang mit gleichzeitigen Änderungen der O_2-Aufnahme stehen[9, 10]. Die Änderungen der O_2-Aufnahme und der Körpertemperatur lassen dabei eine strenge Korrelation erkennen; sie erfolgen immer gleichzeitig und gegenläufig. Erniedrigung der Körpertemperatur und Anstieg der O_2-Aufnahme treffen zusammen ebenso wie Erhöhung der Körpertemperatur und Verminderung der O_2-Aufnahme[10]. Es bestehen außerdem offensichtliche quantitative Zusammenhänge zwischen den Änderungen der Körpertemperatur und den Einstellungen der O_2-Aufnahme bei verschieden erniedrigten O_2-Spannungen[9].

Diese Korrelation zwischen Körpertemperatur und O_2-Aufnahme ist zunächst statistischer Natur. Es kann sich um zwei verschiedene Aspekte eines geregelten Systems handeln, die bei Verstellung in verschiedene Gleichgewichtslagen gesetzmäßig koordinierte Bewegungen ausführen. Die Koordinierung kann prinzipiell von sehr untergeordneter Bedeutung sein. Bei der für ein System mit geregelter Temperatur notwendigen Koppelung zwischen Körpertemperatur und O_2-Aufnahme (als Maß der Wärmebildung) ist es jedoch wahrscheinlich, daß es sich um eine wesentliche Beziehung handelt. Der Beweis für diese Annahme ist — streng genommen — nicht aus der Korrelation von O_2-Aufnahme und Körpertemperatur bei der *Einstellung auf eine veränderte O_2-Spannung allein* zu führen. Eine kausale Verknüpfung muß aber angenommen werden, wenn die beobachtete Korrelation bestehen bleibt, gleichgültig ob die *Körpertemperatur oder die O_2-Aufnahme* die *primäre* Änderung erfährt.

In dieser Untersuchung ist daher *neben der O_2-Spannung die Körpertemperatur unabhängig* geändert und dabei das gleichzeitige Verhalten von Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme registriert worden.

Methodik.

Die Experimente wurden an Meerschweinchen unter den gleichen Bedingungen und in der gleichen Versuchsanordnung durchgeführt wie in den voranstehenden Arbeiten[9, 10]. Nach der Umschaltung auf 8% O_2 und der Einstellung von Rectaltemperatur und O_2-Aufnahme wurde die Umgebungstemperatur und damit die Wärmeabgabe in verschiedenen Schritten geändert. Dazu wurden die Tiere in ihrer Stoffwechselkammer in vorbereitete Luftthermostaten verschiedener Temperatur gebracht. Nach jeder Änderung der Umgebungstemperatur wurde die

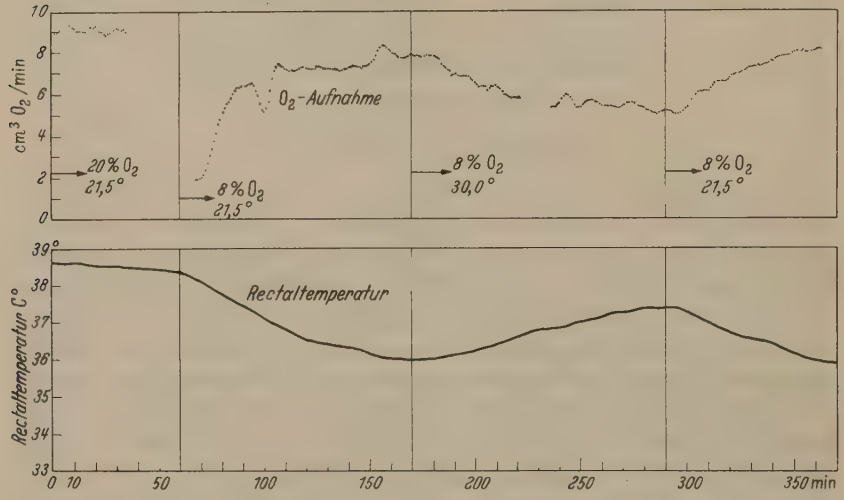


Abb. 1. Gleichzeitige Bewegung von Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme bei Änderung der Umgebungstemperatur im O_2-Mangel. In dem Diagramm ist zunächst Körpertemperatur und O_2-Aufnahme bei normaler O_2-Spannung und normaler Umgebungstemperatur dargestellt. Bei 60 min wird die O_2-Spannung auf 8% O_2 herabgesetzt. Darauf erfolgt die charakteristische Einstellbewegung mit Erniedrigung der Rectaltemperatur und gleichzeitigem Wiederanstieg der zunächst erniedrigten O_2-Aufnahme. Bei 170 min wird bei konstanter O_2-Aufnahme und Rectaltemperatur die Umgebungstemperatur von 21,5 auf 30° C gebracht. Der nun folgende Anstieg der Rectaltemperatur ist begleitet von einem Abfall der O_2-Aufnahme. Nach etwa 100 min ist erneut ein Gleichgewicht für diese Bedingungen erreicht. Bei 290 min Wiederherstellung der ursprünglichen Umgebungstemperatur mit Abfall der Rectaltemperatur und Wiederanstieg der O_2-Aufnahme auf die gleichen Werte, die für diese Bedingungen in der vorhergehenden Versuchsphase bestanden.

Bewegung von Rectaltemperatur und O_2-Aufnahme nach Möglichkeit bis zur konstanten Einstellung registriert.

Die Experimente wurden bei Umgebungstemperaturen unterhalb 30° C ausgeführt. Nach übereinstimmenden Angaben in der Literatur liegt das Stoffwechselminimum für Meerschweinchen dicht bei 30° C[6, 11]. Das Überschreiten dieses Punktes bringt notwendigerweise neue Besonderheiten mit sich. Nach unten wurden die Umgebungstemperaturen so begrenzt, daß die Rectaltemperatur bei der Einstellung 34° C nicht unterschritt. Unter unseren Versuchsbedingungen lag diese Grenze bei den am besten regulierenden Tieren bei der Umgebungstemperatur von 15°. Auf Grund unserer Erfahrungen konnten wir annehmen, daß bis zu der Rectaltemperatur von 34° C der Zustand der geregelten Temperatur mit Sicherheit erhalten war[8].

Ergebnisse.

Änderungen der Umgebungstemperatur und damit der Wärmeabgabe führten bei erniedrigter O_2-Spannung in allen Fällen zu charakteristischen koordinierten Bewegungen von Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme. Innerhalb der angegebenen Grenzen führte in unseren Experimenten eine Erhöhung der Umgebungstemperatur immer zu einer Erhöhung der Körpertemperatur und zu einer gleichzeitigen Erniedrigung der O_2-Aufnahme. Herabsetzung der Umgebungstemperatur dagegen

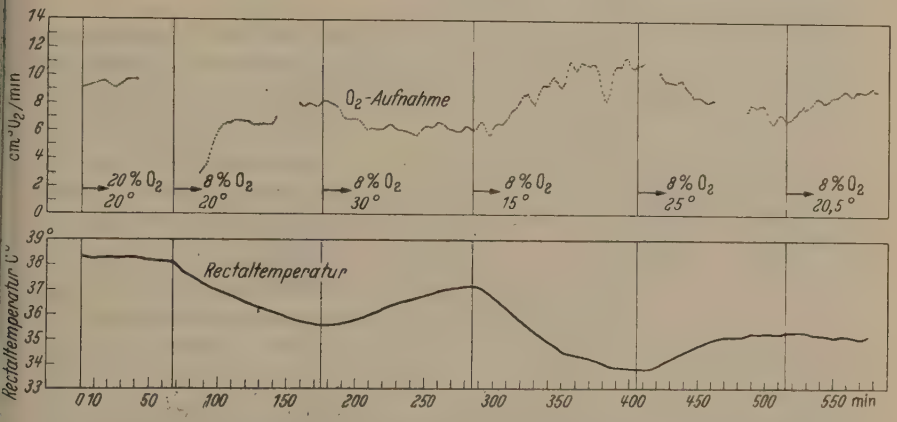


Abb. 2. Wie Abb. 1. Nach Einstellung auf die erniedrigte O_2-Spannung bei normaler Umgebungstemperatur wird jeweils bei dem senkrechten Strich die Umgebungstemperatur geändert auf 30, 15, 25 und wieder 20,5°C. Mit jeder Änderung der Umgebungstemperatur Einstellung auf eine neue Gleichgewichtslage. Bei Herabsetzung der Umgebungstemperatur Abfall der Rectaltemperatur und Anstieg der O_2-Aufnahme. Bei Erhöhung der Umgebungstemperatur Erhöhung der Rectaltemperatur und Abfall der O_2-Aufnahme.

führte zu einer Erniedrigung der Körpertemperatur und zu einer Erhöhung der O_2-Aufnahme. (Vgl. Abb. 1.)

Dieser Befund ist routinemäßig, wenn die Versuche nicht zu sehr ausgedehnt werden. Wie aus dem Diagramm hervorgeht, erfordert die Einstellung auf eine neue Gleichgewichtslage nach Veränderung der O_2-Spannung oder der Umgebungstemperatur Zeiten in der Größenordnung von 2 Std. Versuche, die die Reproduzierbarkeit der Einstellung von Rectaltemperatur und O_2-Aufnahme bei nur zwei verschiedenen Bedingungen prüfen, erfordern im allgemeinen schon 6 Std. Bei länger dauernden Versuchen erfolgt die Einstellung für gleiche Bedingungen bei zunehmend niedrigeren Rectaltemperaturen. Wenn der Übergang auf die niedrigere O_2-Spannung zu Beginn des Versuches bei hohen Umgebungstemperaturen erfolgte — etwa 30° C und darüber — kam es immer zu schlechtem Regulationsverhalten in den nachfolgenden Versuchsphasen. Es war so, als ob die Umstellung auf die erniedrigte

O_2-Spannung bei hohen Umgebungstemperaturen den Organismus unvergleichlich viel stärker belastete. Auch während der schon bestehenden Einstellung auf eine erniedrigte O_2-Spannung setzten Perioden hoher Temperatur die Regulationsfähigkeit in späteren Versuchsphasen meist deutlich herab, doch haben wir den Eindruck, daß die Wirkung der hohen Umgebungstemperatur bei schon bestehender Anpassung an die erniedrigte O_2-Spannung geringer war, als wenn der Übergang auf die erniedrigte O_2-Spannung bei hoher Umgebungstemperatur erfolgte.

In der Abb. 2 ist ein kompliziertes Experiment von grundsätzlich der gleichen Art wie in Abb. 1 dargestellt.

Das Absinken der Regulationsleistung während des Experimentes kommt darin zum Vorschein, daß die eingestellte Rectaltemperatur für eine Umgebungstemperatur von 20° C am Ende des Versuches tiefer liegt als zu Beginn. Die Relativbewegungen ergeben ein eindeutiges Bild, wie aus der Änderungsrichtung der beobachteten Werte bei Änderung der Umgebungstemperatur hervorgeht. In der Tab. 1 ist die Änderungsrichtung zwischen zwei aufeinander folgenden Phasen durch die Differenz der im eingestellten Zustand erreichten Werte dargestellt. Für alle Zwischenwerte der Umgebungstemperatur müssen bei diesem Verhalten kontinuierliche Zwischenwerte für die Rectaltemperatur und O_2-Aufnahme im Gleichgewichtszustand bestehen.

Tabelle 1.

Umgebungstemperatur (in °C)	Rectaltemperatur (in °C)	O_2-Aufnahme (in cm³ pro min)
20	35,6	8,0
	+ 1,5	— 1,8
30	37,1	6,2
	— 3,3	+ 4,5
15	33,8	10,7
	+ 1,4	— 3,7
25	35,2	7,0
	— 0,3	+ 2,0
20	34,9	9,0

Diskussion.

Änderungen der Wärmeabgabe durch Änderungen der Umgebungstemperatur führen im Sauerstoffmangel zu typischen Verstellungen der *Körpertemperatur* und der *Sauerstoffaufnahme*. Senkungen der Umgebungstemperatur bedingen eine Einstellung auf eine neue Gleichgewichtslage mit erniedrigter Körpertemperatur und erhöhter O_2-Aufnahme. Erhöhungen der Umgebungstemperatur führten zu den entgegengesetzten Bewegungen. In allen Einstellbewegungen veränderten sich Körpertemperatur und O_2-Aufnahme streng gegenläufig. Die Einstellung von Rectaltemperatur und O_2-Aufnahme bei veränderter Umgebungstemperatur erfolgte stetig und proportional der Änderung der Umgebungstemperatur. Daraus muß geschlossen werden, daß bei einem bestimmten Tier jeder Umgebungstemperatur ein charakteristischer Wert der Rectaltemperatur und der O_2-Aufnahme entspricht.

Diese Bewegungen der Körpertemperatur zeigen im Prinzip das gleiche Verhalten, wie es bei Änderungen der Wärmeabgabe unter normaler O_2-Spannung beobachtet wird. Auch dort findet sich eine Erniedrigung der mittleren Körpertemperatur und der Rectaltemperatur bei Erhöhung der Wärmeabgabe und ein Anstieg der Körpertemperatur bei Verminderung der Wärmeabgabe[2, 12]. Im O_2-Mangel sind aber die Abweichungen der Rectaltemperatur vom üblichen Mittelwert bei vergleichbaren Änderungen der Wärmeabgabe auf ein Mehrfaches bis Vielfaches angewachsen.

Das hat mehrere Ursachen. Zunächst einmal ist bei den hier verwandten Graden des O_2-Mangels bereits bei den üblichen Umgebungstemperaturen die Rectaltemperatur erheblich gesenkt. Die mit dieser Senkung der Rectaltemperatur verbundene Leistung der Regelmechanismen ist offenbar erforderlich, um bei der erniedrigten O_2-Spannung eine genügende O_2-Aufnahme zu erreichen. Weiterhin ist im O_2-Mangel die Änderung der O_2-Aufnahme mit der Änderung der Rectaltemperatur gering. Es bestehen zwar noch keine direkten Messungen zu dieser Frage, aber wir können aus unseren bisherigen Versuchen Werte entnehmen, die diesen Schluß rechtfertigen. Während für Tiere mittleren Gewichts (350—400 g) bei normaler O_2-Spannung die O_2-Aufnahme sich im Dienste der Temperaturregulation etwa zwischen 5 und 20 cm^3 O_2 pro Minute ändern kann, liegt die O_2-Aufnahme bei 8% O_2 im allgemeinen nunmehr zwischen 5 und 10 cm^3 O_2 pro Minute. Die durch die Mechanismen der Temperaturregulation mögliche Erhöhung der O_2-Aufnahme ist in diesem Beispiel auf ein Drittel abgefallen. Da die Erhöhung der O_2-Aufnahme insgesamt beim Durchlaufen des gleichen Temperaturintervalls erfolgt (39—34°), so muß die relative Änderung der O_2-Aufnahme mit der Rectaltemperatur im O_2-Mangel erheblich vermindert sein. Die maßgebliche Größe für die Einstellung neuer Gleichgewichtslagen bei Änderung der Wärmeabgabe ist aber offensichtlich der mit der Erniedrigung der Körpertemperatur einhergehende Anstieg der O_2-Aufnahme. Daraus begründet sich, daß im O_2-Mangel bei gleichen Änderungen der Wärmeabgabe viel größere Verschiebungen der Körpertemperatur notwendig sind als normalerweise.

Die Rectaltemperatur stellt im O_2-Mangel eine sehr sensible Anzeige dar für Änderungen des Gleichgewichts sowohl über primäre Änderungen der O_2-Spannung als auch über primäre Änderungen der Wärmeabgabe. Änderungen beider Größen wirken sich auf die Rectaltemperatur additiv aus. Das hat nach den vorausgehenden Untersuchungen seine Ursache darin, daß die Einstellung der Größe der O_2-Aufnahme sowohl bei Änderungen der O_2-Spannung als bei Änderung der Wärmeabgabe über die gleichen mit der Körpertemperatur gekoppelten Mechanismen geht.

Die im O_2-Mangel stark verminderte maximale O_2-Aufnahme bringt es mit sich, daß der Bereich der Umgebungstemperaturen, in dem eine konstante Temperatur aufrecht erhalten werden kann, erheblich eingeschränkt ist. Bei normaler O_2-Spannung können Meerschweinchen bis zu einer Umgebungstemperatur von 0° C eine zwar erniedrigte, aber konstante Körpertemperatur aufrecht erhalten. Bei 8% O_2 vermögen dieses nur wenige Tiere in 15° C Umgebungstemperatur.

In der voraufgehenden Untersuchung wurde über die Bewegung von Rectaltemperatur und O_2-Aufnahme bei der Einstellung des Organismus auf *veränderte O_2-Spannungen* berichtet[10]. Die dabei gefundene strenge negative Korrelation (Gegenläufigkeit) von Körpertemperatur und O_2-Aufnahme erlaubte noch keinen zwingenden Schluß auf die Verknüpfung dieser beiden Größen. In dieser Untersuchung wurde primär die *Körpertemperatur* auf dem Umwege über die Umgebungstemperatur verändert. Sämtliche beobachteten Veränderungen der Körpertemperatur gingen einher mit gegenläufigen Änderungen der O_2-Aufnahme. Unabhängig also davon, ob der primäre Angriff der Veränderung an der O_2-Aufnahme erfolgt (über die Änderung der O_2-Spannung) oder an der Körpertemperatur (über die Änderung der Wärmeabgabe), erfolgt die Einstellung des resultierenden Gleichgewichts immer mit denselben gleichzeitigen und gegenläufigen Bewegungen von Körpertemperatur und O_2-Aufnahme. Körpertemperatur und O_2-Aufnahme zeigen also die Beziehung der gegenseitigen Abhängigkeit, wie sie für Größen charakteristisch ist, die im Regelzusammenhang stehen. Das entspricht der Kausalbeziehung in einfachen Systemen.

Die in dieser Arbeit beschriebene übersichtliche Beziehung zwischen Körpertemperatur und Größe der O_2-Aufnahme bei veränderlicher Wärmeabgabe und unverändert erniedrigter O_2-Spannung ist ein weiteres schwerwiegendes Argument für die kausale Bedeutung des Temperaturabfalles bei der Einstellung der O_2-Aufnahme nach Erniedrigung der O_2-Spannung[10]. Weiterhin ergibt sich aus diesem Verhalten noch einmal, daß die Verstellung der Rectaltemperatur im O_2-Mangel keine Störung der Temperaturregulation ist[9].

Die Größe der Sauerstoffaufnahme bei erniedrigter O_2-Spannung ist nach dem Ergebnis dieser Untersuchung entscheidend mitbedingt durch die Körpertemperatur und damit durch die Umgebungsfaktoren, die die Körpertemperatur beeinflussen. Unter den hier eingesetzten Bedingungen war die O_2-Aufnahme in jedem Fall um so größer, je niedriger die Umgebungstemperatur und damit die Körpertemperatur war (bis herab zu 34° rectal). Es ist naheliegend, die Annahme einzuführen, daß die Überlebensbedingungen im O_2-Mangel um so günstiger seien, je höher die O_2-Aufnahme ist. Damit würde auch der günstige Einfluß niedriger Umgebungstemperaturen im O_2-Mangel verständlich. Vgl. voraufgehende Untersuchung[9].

Die hier beschriebene Zunahme der Sauerstoffaufnahme bzw. der Stoffwechselgröße mit fallender Temperatur heißt nicht, daß die isolierten Prozesse der Energieumsetzung im Organismus eine solche unmittelbare Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur aufweisen. Die Aussage bezieht sich vielmehr auf den Organismus als Ganzes.

Zusammenfassung.

Das Verhalten von Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme des Meerschweinchens bei 8% O_2 und veränderlicher Umgebungstemperatur zwischen 15—30° C wurde untersucht. Körpertemperatur und Sauerstoffaufnahme reagieren im O_2-Mangel in sensibelster Weise auf Änderungen der Wärmeabgabe. Eine Herabsetzung der Umgebungstemperatur führt sofort zu einer deutlichen Senkung der Rectaltemperatur mit einem gleichzeitigen Anstieg der O_2-Aufnahme. Bei Erhöhung der Umgebungstemperatur findet sich das umgekehrte Verhalten. In allen Fällen bewegen sich O_2-Aufnahme und Körpertemperatur gegensinnig. Es findet sich die gleiche Form der Koppelung von Körpertemperatur und O_2-Aufnahme, sowohl bei einer primären Änderung der O_2-Aufnahme über die O_2-Spannung als auch bei einer primären Änderung der Körpertemperatur über die Wärmeabgabe. Körpertemperatur und O_2-Aufnahme müssen mithin auch im O_2-Mangel im Zusammenhang „*geregelter Größen*" stehen.

Literatur.

[1] Alders, N., u. E. Wertheimer: Z. exper. Med. **70**, 319 (1930). — [2] Bradtke, F., u. W. Liese: Hilfsbuch für raum- und außenklimatische Messungen. Berlin: Springer 1952. — [3] Bunge, J.: Luftfahrtmedizin **6**, 127 (1942). — [4] Gellhorn, E.: Amer. J. Physiol. **120**, 190 (1937). — [5] Gross, F., u. H. W. Romberg: Riv. Med. Aeron. **15**, 212 (1952). — [6] Herrington, L. P.: Amer. J. Physiol. **129**, 123 (1940). — [7] Kreidl, A., u. A. Neumann: Pflügers Arch. **158**, 263 (1914). — [8] Pichotka, J., u. G. Caroli: In Vorbereitung. — [9] Pichotka, J., O. Creutzfeldt u. W. Höfler: Im Druck. — [10] Pichotka, J., O. Creutzfeldt u. W. Höfler: Im Druck. — [11] Verzàr, F., u. V. Wahl: Biochem. Z. **240**, 37 (1931). — [12] Winslow, C.-E. A., u. L. P. Herrington: Temperature and Human Life, Princeton University Press 1949.

Dozent Dr. J. Pichotka, Freiburg/Br.,
Physiolog. Institut d. Albert-Ludwigs-Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 342—345 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Firma H. Lundbeck & Co. A/S, Kopenhagen.

Ascorbinsäureherabsetzung in den Nebennieren hypophysektomierter Ratten durch Salicylsäure.

Von

HANS WEIDMANN.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 11. Dezember 1954.)

SVIRBELY (1939) und später FROMMEL et al. (1945) haben als erste einen Abfall der Ascorbinsäure in den Nebennieren von Ratten und Meerschweinchen nach Acetanilid, Phenacetin und Amidopyrin beschrieben. Diese Befunde gewannen an Bedeutung, als SAYERS et al. (1944) zeigen konnten, daß mit der Stimulierung der Nebennieren durch Corticotropin eine Herabsetzung ihres Ascorbinsäuregehaltes einhergeht.

Der Ascorbinsäureabfall kann direkt zur quantitativen Beurteilung der sekretorischen Aktivität der Nebennieren herangezogen werden (SAYERS u. SAYERS, 1948; NASMYTH, 1949; DURY, 1953). Angeregt durch diese Zusammenhänge nahmen zahlreiche Untersucher die von SVIRBELY u. FROMMEL begonnenen Versuche auf breiterer Basis wieder auf, so BLANCHARD et al. (1950) mit Cinchoninsäurederivaten, CRONHEIM et al. (1952), VAN CAUWENBERGE (1953) und LOWENTHAL u. JAQUES (1953) mit Salicylsäurederivaten und KUZELL et al. (1952) mit Pyrazolonderivaten.

Die Verbindungen rufen nach BLANCHARD et al., VAN CAUWENBERGE (1951), HETZEL u. HINE (1951), CRONHEIM et al. und KUZELL et al. keinen Ascorbinsäureabfall in den Nebennieren hypophysektomierter Ratten hervor.

Man glaubte deshalb annehmen zu dürfen, daß den Stoffen — mindestens im Tierversuch — ein gemeinsamer Wirkungsmechanismus zugrunde liege, nämlich der einer Stimulierung der Nebennieren über Hypothalamus-Hypophyse als Vermittler.

Nach neuerdings von COSTE et al. (1953) veröffentlichten Untersuchungen soll nun aber Salicylsäure auch an der hypophysektomierten Ratte die Ascorbinsäure in den Nebennieren herabsetzen. Da die Frage von prinzipieller Bedeutung zu sein scheint, haben wir die Untersuchungen von COSTE et al. nochmals aufgenommen und erweitert.

Methode.

Für die Versuche wurden männliche Ratten im Gewicht von 160—240 g verwendet. — *Intakte Ratten:* Intakte Ratten wurden mit den zu prüfenden Substanzen bzw. 0,9%iger Kochsalzlösung (Kontrollen) subcutan injiziert. 2 Std nach der Injektion wurden den Tieren in Äthernarkose die Nebennieren entfernt. — *Hypophysektomierte Ratten:* Parapharyngeal hypophysektomierten Ratten wurde

21—25 Std nach der Operation in Äthernarkose die linke Nebenniere entfernt, und darauf die Substanzen subcutan bzw. i.v. injiziert. 2 Std nach der subcutanen bzw. 1 Std nach der i.v. Injektion wurde die rechte Nebenniere exstirpiert. — Die Nebennieren wurden sofort nach der Exstirpation von Bindegewebe und Fett gereinigt, gewogen und homogenisiert. Die Ascorbinsäure wurde nach der Methode Roe u. Kuether (1943) bestimmt und ist in Milligramm per 100 g Nebennierengewebe umgerechnet. — An der intakten Ratte bedeutet der Ascorbinsäureabfall die Differenz zwischen dem Ascorbinsäuregehalt in den Nebennieren der mit Kochsalz injizierten und der mit der Testsubstanz injizierten Gruppe. An der hypophysektomierten Ratte ist für den Ascorbinsäureabfall die Differenz zwischen dem Ascorbinsäuregehalt der linken und rechten Nebenniere maßgebend.

Resultate.

In Tab. 1 ist der nach subcutaner Injektion von 200 mg/kg der geprüften Stoffe beobachtete Ascorbinsäureabfall in den Nebennieren intakter und hypophysektomierter Ratten angeführt. An der intakten Ratte führen alle untersuchten Substanzen zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Abnahme der Ascorbinsäure in den Nebennieren. An der hypophysektomierten Ratte dagegen teilen sich die Stoffe in zwei Gruppen auf: Salicylsäure setzt die Ascorbinsäure in den Nebennieren herab; Hydroxyphenylcinchoninsäure und Butazolidin (3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin) lassen die Ascorbinsäure in den Nebennieren unverändert.

Tabelle 1. *Ascorbinsäureabfall in den Nebennieren intakter und hypophysektomierter männlicher Ratten 2 Std nach subcutaner Injektion von Salicylsäure, Hydroxyphenylcinchoninsäure und Butazolidin.*

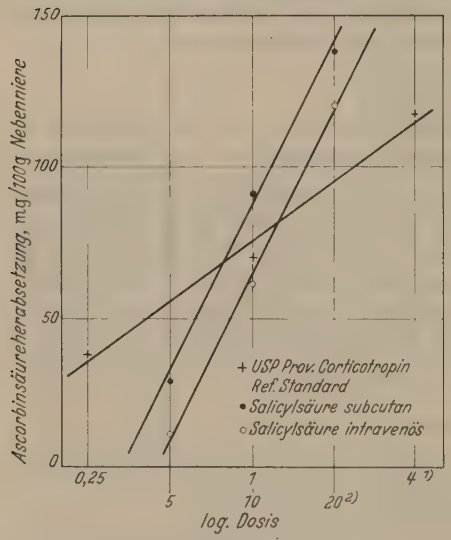
Substanz	Dosis mg/kg s. c.	Ascorbinsäureabfall in mg per 100 g Nebenniere	
		Intakte Ratten	Hypophysektomierte Ratten
Kontrollen	—	—	1 (10)[1]
Salicylsäure	200	196 (10)	138 (72)
Hydroxyphenylcinchoninsäure	200	169 (19)	5 (10)
Butazolidin	200	105 (10)	10 (30)

[1] Zahlen in Klammern = Anzahl Ratten.

Um ein genaueres Bild über die quantitativen Verhältnisse an der hypophysektomierten Ratte zu bekommen, wurde Salicylsäure i.v. und subcutan in drei abgestuften Dosen injiziert und mit ACTH (USP Provisional Corticotropin Reference Standard) bei i.v. Injektion verglichen. Abb. 1 zeigt, daß Salicylsäure an der hypophysektomierten Ratte im angewendeten Dosenbereich die Ascorbinsäure in den Nebennieren proportional der injizierten Menge herabsetzt. Dabei ist Salicylsäure bei subcutaner Injektion (2-Stundenversuch) etwa $1^1/_2$mal wirksamer als bei

i.v. Injektion (1-Stundenversuch). Wir möchten allerdings diesem Unterschied nicht zuviel Gewicht beilegen, da die Versuche zeitlich auseinanderliegen.

Die Dosis-Wirkungskurven für Salicylsäure i.v. und subcutan verlaufen steiler als diejenige für ACTH. Ein quantitativer Vergleich zwischen den beiden Substanzen ist deshalb an sich nicht möglich. Als Anhaltspunkt kann dienen, daß im Schnittpunkt der Geraden von Salicylsäure i.v. und subcutan mit derjenigen von ACTH *11,8 bzw. 7,6 g Salicylsäure der Wirkung von 1 IE ACTH entsprechen.*



1 $\frac{1}{1000}$ IE Corticotropin per 100 g Ratte.

2 mg Salicylsäure per 100 g Ratte

Abb. 1. Dosis-Wirkungskurven der ascorbinsäureherabsetzenden Wirkung von Salicylsäure und ACTH in den Nebennieren hypophysektomierter Ratten. Jeder Punkt stellt den Mittelwert aus 15 Versuchen dar.

Diskussion.

Die vorliegenden Resultate stimmen mit denjenigen von Coste et al. überein, welche als erste einen Ascorbinsäureabfall in den Nebennieren hypophysektomierter Ratten nach Verabreichung von Salicylsäure beschrieben haben. Hingegen stehen sie im Gegensatz zu den Resultaten früherer Untersucher (s. S. 342). Eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse dürfte nicht leicht zu finden sein. Daß die von uns gefundene Wirkung der Salicylsäure nicht auf einer mangelhaften Entfernung der Hypophyse beruht, zeigen — abgesehen von der autoptischen Kontrolle — die unter gleichen Bedingungen erhaltenen Befunde mit Hydroxyphenylcinchoninsäure und Butazolidin; diese beiden Stoffe sind an der hypophysenlosen Ratte wirkungslos.

Die einfachste Erklärung für den Wirkungsmechanismus ist wohl die einer direkten corticotropen Wirkung der Salicylsäure auf die Nebennieren. Auf die Möglichkeit einer solchen Wirkung am Menschen haben bereits van Cauwenberge u. Heusghem (1952) aufmerksam gemacht. Ein direkter Beweis dafür steht allerdings aus. In eigenen Untersuchungen konnten wir die Nebennierenatrophie an der hypophysektomierten Ratte durch Behandlung mit Salicylsäure nicht verhindern. Daß dies an sich

verständlich ist, geht aus folgender Überlegung hervor: Der Ascorbinsäuretest an der Ratte nach SAYERS et al. (1948) ist etwa tausendmal empfindlicher als der Gewichtserhaltungstest nach SIMPSON et al. (1943). Wenn die von uns gefundene Relation: 1 IE ACTH $\approx$ 10 g Salicylsäure zugrunde gelegt wird, würden unter Berücksichtigung der im Erhaltungstest notwendigen Dosen ACTH etwa 20 g/kg/Tag Salicylsäure notwendig sein, um die Nebennierenatrophie an der hypophysektomierten Ratte zu verhindern, also Dosen, die weit über den verträglichen liegen.

Zusammenfassung.

Salicylsäure führt bei subcutaner und i.v. Injektion zu einer Herabsetzung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren hypophysektomierter Ratten. Die Herabsetzung der Ascorbinsäure ist im angewendeten Dosenbereich (50—200 mg/kg) proportional der injizierten Salicylsäuremenge. Die Dosis-Wirkungskurve für Salicylsäure verläuft steiler als diejenige für ACTH (USP Provisional Corticotropin Reference Standard). Im Schnittpunkt der beiden (logarithmischen) Geraden entspricht die Wirkung von 1 IE ACTH ungefähr 10 g Salicylsäure. — Hydroxyphenylcinchoninsäure und Butazolidin beeinflussen den Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren hypophysektomierter Ratten nicht.

Literatur.

BLANCHARD, K. C., E. H. DEARBORN, T. H. MAREN and E. K. MARSHALL jr.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **86**, 83 (1950). — VAN CAUWENBERGE, H.: Lancet **1951**, 374 II. — C. r. Soc. Biol. (Paris) **147**, 1118 (1953). — VAN CAUWENBERGE, and C. HEUSGHEM: Acta med. scand. (Stockh.) **141**, 265 (1952). — COSTE, F., M. BOUREL et F. DELBARRE: C. r. Soc. Biol. (Paris) **147**, 668 (1953). — CRONHEIM, G., J. S. KING and N. HYDER: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **80**, 51 (1952). — DURY, A.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **82**, 92 (1953). — FROMMEL, E., J. PIQUET, C. L. CUÉNOD u. M. LOUTFI: Helvet. physiol. Acta **3**, 399 (1945). — HETZEL, B. S., and D. C. HINE: Lancet **1951**, 94 II. — KUZELL, W. C., R. W. SCHAFFARZICK, B. BROWN and E. A. MANKLE: J. Amer. Med. Assoc. **149**, 729 (1952). — LOWENTHAL, J., and L. B. JAQUES: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **107**, 172 (1953). — NASMYTH, P. A.: J. of Physiol. **110**, 294 (1949). — ROE, J. H., and C. A. KUETHER: J. of Biol. Chem. **147**, 399 (1943). — SAYERS, G., and M. A. SAYERS: Recent Progress in Hormone Research **2**, 81 (1948). — SAYERS, G., M. A. SAYERS, H. L. LEWIS and C. H. N. LONG: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **55**, 238 (1944). — SAYERS, M. A., G. SAYERS and L. A. WOODBURY: Endocrinology (Springfield, Ill.) **42**, 379 (1948). — SIMPSON, M. E., H. M. EVANS and C. H. LI: Endocrinology (Springfield, Ill.) **33**, 261 (1943). — SVIRBELY, J. L.: J. of Biol. Chem. **131**, 233 (1939).

Dr. H. WEIDMANN, Kopenhagen-Valby (Dänemark), H. Lundbeck & Co. A/S.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 346—351 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. S. Janssen) und der neuropathologischen Abteilung (Leiter: Prof. Dr. H. Noetzel) des Pathologischen Instituts der Universität Freiburg/Breisgau.

Spezifische Veränderungen im Kleinhirn bei chronischer oraler Vergiftung mit Sublimat.

Von

A. Enders und H. Noetzel.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. November 1954.)

Bei den wenigen vorliegenden Versuchen über chronische Quecksilbervergiftung konnten zwar allgemeine Schädigungen, aber mit einer Ausnahme keine spezifischen Veränderungen des Zentralnervensystems erzielt werden.

So berichten Fraser u. Mitarb., daß sich beim Hund nach 40tägiger Einatmung quecksilberhaltiger Luft eine Gingivitis einstellt. Bomford, Hunter u. Russell konnten mit organischen Quecksilber-Methylverbindungen bei Verabreichung durch die Schlundsonde Veränderungen erzeugen, die uns erst nach Abschluß eigener Experimente bekannt wurden (vgl. unten S. 346).

In Versuchen von Enders über die Beeinflussung der Wachstumsfähigkeit von Ratten durch Sublimat traten zentrale Ausfallserscheinungen in Abhängigkeit von Dosis und Zeit der Verabreichung auf. Wir gingen diesen Befunden gemeinsam nach und konnten feststellen, daß morphologische Gehirnveränderungen den klinischen Symptomen parallel gingen und daß sowohl die klinischen, als auch die histologischen Befunde bei unserem Vorgehen keinen Ausnahmebefund wie in dem von Russell geschilderten Fall darstellen. Da wir zudem im Unterschied zu Russell eine anorganische Quecksilber-Verbindung und eine besondere Art der oralen Verabreichung verwendeten, glauben wir uns zur Mitteilung der folgenden Befunde berechtigt.

Methodik.

Wir verwendeten Albinoratten, die in Drahtkäfigen bei 23° Raumtemperatur gehalten wurden. Sie erhielten einen Futterbrei konstanter Zusammensetzung aus Haferflocken, Trockenmilch, Lebertran und McCollum-Salz, d. h. eine *qualitativ* vollwertige Kost. (Näheres bei Enders.) Bei Versuchsbeginn wogen die Tiere 50—55 g und waren etwa 4 Wochen alt. Sie wurden täglich gewogen und erhielten pro Tag entsprechend der Abnahme oder Zunahme des Gewichtes stets soviel Futter, daß sie das Gewicht von 50 g in der Folgezeit nicht unterschritten und das Gewicht von 55 g in der ganzen 3—10 Monate dauernden Fütterungszeit nicht überschritten. Die Kontrolltiere zeigten bei dieser Behandlung, d. h. bei quantitativ

unzureichender, jedoch qualitativ ausreichender Kost keine Schädigung. (Näheres bei Enders.) Die Versuchstiere erhielten täglich 5—10 mg Sublimat pro Tier, was einer täglichen Zufuhr von 100—200 mg/kg Quecksilberchlorid entspricht. Diese Menge wurde in ½%iger Lösung mit dem Futterbrei gut vermischt. Zur Lösung wurden die offizinellen Sublimat-Tabletten verwendet. Im allgemeinen wurde die größere Dosis (10 mg pro Tier) verabreicht. Wenn die Tiere einen sehr hinfälligen Eindruck machten, wurde die Dosis auf die Hälfte reduziert.

Ergebnisse.

Während unterernährte Ratten ohne Quecksilberchlorid im Futterbrei die ihnen täglich zugewogene Futtermenge in längstens 20 min nach der Verabreichung auffraßen, nahmen die Versuchstiere ihre Nahrung nur langsam und zögernd innerhalb von 12—24 Std zu sich. Damit wurden die Verhältnisse nachgeahmt, wie sie etwa bei einer chronischen Quecksilbervergiftung oder einer Quecksilberbehandlung bestehen. Die während der Vergiftungsperiode verabreichten Futtermengen schwankten bei den Kontrolltieren und den mit Sublimat vergifteten Tieren zwischen 13 und 15 g. Wir haben im allgemeinen den Eindruck, daß die mit Sublimat vergifteten Ratten, obwohl sie ihr Futter, wie oben geschildert, nur langsam und zögernd zu sich nahmen, doch absolut größere Futtermengen fraßen. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Von 53 Ratten überlebten nur 14 Tiere eine 3—10 Monate dauernde Vergiftung (Fütterungszeiten vgl. Tab. 1).

3 weibliche Ratten wurden nach der Fütterungsperiode mit Quecksilberchlorid nicht getötet, sondern erhielten noch 3—5 Monate lang sublimatfreies Futter in beliebigen Mengen verabreicht (Nr. 2, 3 und 3a). Die Tiere 3 und 3a erreichten ein annähernd normales Gewicht von 160—190 g. Sie warfen nach der Paarung gesunde Junge in normaler Wurfzahl. Der Gewichtsanstieg war bei diesen Tieren langsamer als bei Ratten, die vorher chronisch ohne Quecksilberchlorid unterernährt worden waren. Während letztere in 14 Tagen bei Angebot beliebiger Futtermengen nach der Hungerperiode im Durchschnitt 65 g an Gewicht zunahmen, betrug der Gewichtsanstieg bei vorher mit Sublimat vergifteten Tieren in dieser Zeit nur 20 g. In der Folgezeit glich sich der Unterschied wieder aus, wie das normale Endgewicht dieser Tiere beweist. Eine bleibende Schädigung der Wachstumsfähigkeit war also nicht eingetreten, nur eine leichte Hemmung der Geschwindigkeit des Gewichtsanstiegs in den ersten Wochen nach Abbruch der Quecksilberdarreichung.

Nach frühestens 3 Monaten, im allgemeinen nach 6 Monaten, zeigten die Ratten unsicheren Gang und Tremor an Kopf und Extremitäten. Der Tremor war besonders deutlich zu sehen, wenn die Ratten am Schwanz frei in der Luft gehalten wurden. Wir versuchten zur Objektivierung der schwer zu beschreibenden neuromuskulären Störung die bei

den freihängenden Tieren auftretenden Ruder- und Laufbewegungen der Extremitäten zu zählen; gegenüber 10—15 solcher Bewegungen bei normalen Tieren wurden bei den vergifteten Ratten 20—25 in 10 sec gezählt. (Der Unterschied ist in Wirklichkeit noch größer, da bei den schnellen Bewegungen die Möglichkeit, eine Bewegung zu übersehen, leicht gegeben ist.) Wir schrieben bei den frei am Schwanz hängenden Tieren ferner

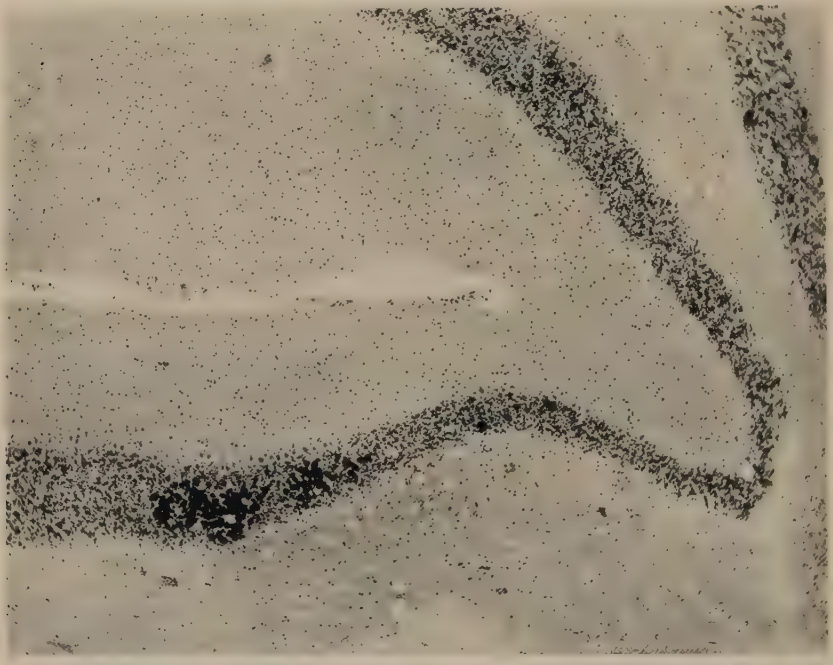


Abb. 1. Ausschnitt aus dem Kleinhirnwurm einer 6 Monate mit Sublimat gefütterten Ratte (Nr. 4). An mehreren Stellen unregelmäßige größere und kleinere Kalkablagerungen in der Körnerschicht der Kleinhirnrinde. Färbung: Kossa.

das EKG. Dabei wurden im wesentlichen die Muskelaktions-Ströme aufgezeichnet. Ohne Rücksicht auf ihre Eigenart war doch bei den mit Quecksilberchlorid vergifteten Ratten die größere Bewegungsfrequenz gegenüber den normalen klar ersichtlich. Bei zwei chronisch vergifteten Ratten konnte diese neuromuskuläre Störung noch zwei Monate nach Absetzen der Sublimat-Verfütterung beobachtet werden. — Lähmungen konnten wir im Gegensatz zu den Befunden von Russell nicht feststellen.

Zur morphologischen Untersuchung gelangten 14 Tiere. Bei 9 von diesen fanden sich neben den typischen Nierenschädigungen Kalkablagerungen im Kleinhirn, wobei die Körnerschicht des Kleinhirnwurmes eindeutig bevorzugt war (Abb. 1). Wie die Tab. 1 zeigt, traten diese

Kalkablagerungen erstmals nach 3monatiger Verfütterung, und dann ziemlich konstant auf. Nach dieser Zeit fehlten sie nur bei zwei Tieren (16 und 22). Bei Tier 16, das spontan nach 16monatiger Versuchsdauer gestorben war, fanden sich im Großhirn Diapedesisblutungen. Bei Tier 22 waren abweichend von den sonstigen Versuchsbedingungen zusätzlich täglich 100 mg Kochsalz verfüttert worden.

Tabelle 1.

Histologische Veränderungen von Ratten chronischer Quecksilbervergiftung.

Tier-nummer	Zeit der Sublimat-Verfütterung in Monaten	Verkalkungen			Bemerkungen
		Cerebellum	Cerebrum	Niere	
11	2	∅	∅	—	spontan gestorben
10	3	∅	∅	—	„ „
14	3	∅	∅	—	„ „
15	3	+	∅	—	„ „
17	$3^1/_5$	+	∅	—	„ „
22	6	∅	∅	+	„ „ gleichzeitige Kochsalzverfütterung
2	6	+	∅	+	getötet nach anschließender 5monatiger sublimatfreier Ernährung
4	6	+	∅	—	spontan gestorben
16	$6^1/_2$	∅	Diapedesisblutungen	—	„ „
20	$6^1/_2$	+	∅	+	„ „
18	7	+	∅	+	„ „
21	8	+	∅	+	„ „ nach anschließender 20tägiger sublimatfreier Ernährung
3	10	+	∅	—	getötet nach anschl. 3monatiger sublimat freier Ernährung
3a	10	+	∅	—	getötet nach anschl. 3monatiger sublimatfreier Ernährung

(Erklärungen zur Tabelle: + = pathologisch-histologische Veränderungen gefunden (im Kleinhirn Kalkablagerungen, bei der Niere Nephrose), ∅ = keine Veränderungen, — = wurde nicht untersucht.)

Als Kontrolle dienten 7 Ratten, die unter den gleichen Bedingungen gehalten wurden und kein Sublimat erhalten hatten. Diese Tiere zeigten in keinem einzigen Fall pathologische Veränderungen am Zentralnervensystem und an den Nieren[1].

[1] Ausführliche Mitteilung der histologischen Befunde, s. Noetzel, Beiträge prakt. Anat. im Druck.

Besprechung der Befunde.

Für die neurologischen Symptome bei chronischer Quecksilbervergiftung sind beim Menschen bisher entsprechende Gehirnveränderungen nicht beschrieben worden. Nur bei der akuten Quecksilbervergiftung finden sich Angaben über eine Purpura cerebri (Dietrich u. a.). D. Russell gelang es erstmalig, im Tierexperiment bei chronischer Vergiftung mit Methylmercurijodid morphologische Veränderungen in Form einer Parenchymdegeneration der peripheren Nerven- und der Hinterstränge des Rückenmarks sowie bei *einem* Tier Kalkablagerungen im Kleinhirnwurm zu erzeugen.

In unseren Versuchen kam es bei 6—10monatiger Verfütterung von Sublimat mit großer Regelmäßigkeit (bei 7 von 9 Tieren) zu gleichartigen Kalkablagerungen mit gleicher Lokalisation in der Körnerschicht des Kleinhirnwurmes. Unsere Befunde bestätigen somit die von Russell gefundenen Veränderungen im Cerebellum. Sie zeigen außerdem, daß sie bei der von uns angewendeten Methodik beinahe gesetzmäßig in Abhängigkeit von Dosis und Zeit der Verfütterung zu erzielen sind. Da die Befunde im Kleinhirn nach Sublimat-Verfütterung auftraten, verursachen nicht nur organische, sondern auch anorganische Quecksilberverbindungen solche Kalkablagerungen im Kleinhirn. Es scheint somit — jedenfalls für diesen Befund — keine Rolle zu spielen, in welcher chemischen Verbindung das Quecksilber resorbiert wird, wenn diese Resorption nur gewisse Mindestmengen bzw. eine gewisse Mindestzeit überschreitet (vgl. dazu Moeller). Es ist weiter bemerkenswert, daß die histologischen Veränderungen an der Stelle auftraten, wo sie auf Grund der klinischen neurologischen Symptome zu erwarten waren.

Wieweit diese Kalkablagerungen spezifisch für Quecksilberverbindungen sind, können wir nicht sagen. Das Fehlen der Kalkablagerungen bei Tier 22, das gleichzeitig mit Kochsalz gefüttert wurde, stimmt damit überein, daß durch das Quecksilber — wenigstens subacut — eine hypochlorämische Azotämie erzeugt wird, durch die in den Natriumchloridstoffwechsel eingegriffen wird und durch die es zu den Kalkablagerungen in der Niere kommt; diese könnten dann eventuell durch zusätzliche Kochsalzgaben auch bei chronischer Vergiftung im Z. N. S. vermieden werden. Bei der akuten Sublimatvergiftung ist der günstige Erfolg der Kochsalzbehandlung bekannt (u. a. Moeschlin).

Die gleichzeitige Unterernährung der Ratten mag zwar das Ausmaß der Vergiftung verstärkt haben. Unsere Kontrollversuche beweisen jedoch, daß sie mit der spezifischen Art der Schädigung des Kleinhirns nicht in Zusammenhang gebracht werden kann.

Zusammenfassung.

Eine mehrere Monate dauernde Verfütterung von Quecksilberchlorid (Sublimat) an Ratten in Dosen von 100—200 mg/kg bei gleichzeitiger Unterernährung verursacht spezifisch neurologische Symptome und zugleich im Kleinhirn Kalkablagerungen.

Nachtrag bei der Korrektur: Während der Drucklegung erschien die Arbeit von U. Hagen „Toxikologie organischer Quecksilberverbindungen" (Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 193, 1954). Verf. sah bei Ratten — unter anderen Versuchsbedingungen — nach Applikation organischer Quecksilberverbindungen ebenfalls zentral-nervöse Schädigungen wie Tremor, Krämpfe, jedoch keine histologischen Veränderungen im Kleinhirn.

Literatur.

Hunter, D., R. B. Bomfort and D. S. Russell: Quart. J. Med., New Ser. 9, Nr. 35, 193 (1940) Great Britain. — Dietrich, A.: Z. Neur. **68**, 351 (1921). — Enders, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 555 (1954). — Fraser, A. M., R. Stehle and Melville, K.J.: J. Industr. Hyg. a. Toxicol. **16**, 77 (1934), zit. nach K. Möller: Pharmakologie, S. 630. Basel: Verlag Schwabe 1947. — Moeller, K.: Lehrbuch der Pharmakologie, S. 679. Basel: Verlag Schwabe 1953. — Moeschlin, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen, S. 53. Georg Thieme-Verlag 1952.

Dozent Dr. Alfred Enders, Memmingen (Allgäu), bei Firma Gödecke & Co., Chemische Fabrik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 352—358 (1955).

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Humboldt-Universität zu Berlin (Direktor: Prof. Dr. F. Jung) und der Abteilung Pharmakologie des Instituts für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften, Berlin-Buch.

Über Stoffwechselleistungen von roten Blutkörperchen.

III. Zur Aufklärung des sogenannten Mischeffektes bei der Methämoglobinrückbildung.

Von

Hansjürgen Matthies, Fritz Jung und Ruth Schäfer.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Dezember 1954.)

In der vorhergehenden Mitteilung (II) haben wir über einen eigentümlichen Effekt berichtet, der bei der Rückbildung des Methämoglobins [Hb(3)] auftritt, wenn man den Hb(3)-haltigen Zellen Hb(3)-freie Erythrocyten zumischt: Die Hb(2)-Zellen fördern die Rückbildung in den Hb(3)-Zellen (Mischeffekt). Die Förderung ist der Zahl der zugemischten Zellen direkt proportional. Dieser Effekt ist auch zwischen den Zellen verschiedener Tierarten zu beobachten. Die stärkste Beschleunigung wird durch Hb(2)-Zellen vom Kaninchen erzielt, ihnen folgen die menschlichen Erythrocyten; die schwächste Wirkung zeigen die Pferdezellen. Jugendliche Blutzellen sind weniger aktiv als ausgereifte.

Zur Erklärung des Mischeffektes kann an die Beseitigung eines in den Hb(3)-Zellen bei der Rückbildung entstehenden und diesen Prozeß selbst hemmenden Stoffwechselprodukts durch die Hb(2)-Zellen gedacht werden, aber es muß auch die Bildung eines die Rückbildung fördernden Substrates durch die Hb(2)-Zellen in Betracht gezogen werden. Die zweite Annahme erschien uns wahrscheinlicher. Die folgenden Versuche stützen die Hypothese, daß die Ursache des Mischeffektes die von den Hb(2)-Zellen gebildete Milchsäure ist.

Methodik.

Frisches Menschen-, Pferde- und Kaninchenblut wurde defibriniert und gelangte nach spätestens 2 Std zum Versuch. Diese Vorsichtsmaßnahme war auf Grund unserer Untersuchungen über den irreversiblen Abbau der Stoffwechselsysteme der roten Blutzellen bei Substratmangel notwendig. Die Hb(3)-Zellen wurden wie in unseren früheren Versuchen durch Behandlung der frischen Zellen mit 2,4%iger $NaNO_2$-Lösung hergestellt. Sowohl die Hb(3)-, als auch die Hb(2)-Zellen wurden dann mit phosphatgepufferter isotoner NaCl-Lösung vom p_H 7,3 bei 3000 U/min dreimal gewaschen und in der gleichen Salzlösung suspendiert. Die Zellkonzentration

betrug durchschnittlich 3×10^9 Zellen/ml und wurde durch mehrfaches Zählen in der Zählkammer genau bestimmt. Die Milchsäurebestimmung erfolgte nach KUBOWITZ, die Brenztraubensäurebestimmung nach FRIEDEMANN u. HAUGEN colorimetrisch. Alle gemessenen Werte wurden auf 10^9 Zellen umgerechnet. Die Messung der Hb(3)-Rückbildung wurde entweder manometrisch im WARBURG-Apparat oder colorimetrisch nach der Cyanid-Methode von HAVEMANN, JUNG u. ISSEKUTZ durchgeführt. Die Versuchstemperatur war in allen Fällen 37° C, Substratzusatz erfolgte in der Regel nicht. Bei den manometrischen Versuchen war der Gasraum Kohlenmonoxyd, in allen anderen Versuchen Luft. Die Zellgemische waren stets aus gleichen Teilen Hb(3)- und Hb(2)-Zellen zusammengesetzt.

Ergebnisse.

I.

Aus methodischen Gründen führten wir die grundlegenden Versuche mit Kaninchenerythrocyten durch. Ausgehend von der Vorstellung, daß die Milchsäure der Faktor ist, der die Hb(3)-Rückbildung im Misch-

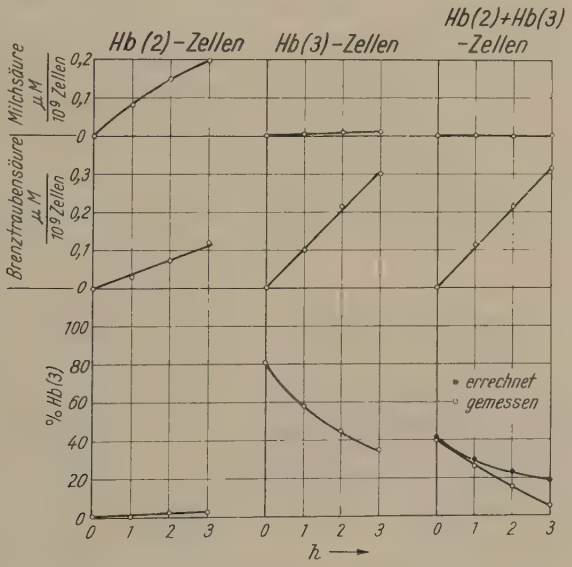


Abb. 1. Milchsäurebildung, Brenztraubensäurebildung und Methämoglobinreduktion in Hb(2)-Zellen, Hb(3)-Zellen und im Gemisch beider Zellarten. — Temperatur: 37° C; Gasraum: Luft; ohne Substratzusatz.

versuch beschleunigt, untersuchten wir die Milchsäurebildung der Hb(2)-Zellen, der Hb(3)-Zellen und des Gemischs beider Zellarten. Es zeigte sich stets das gleiche Bild: Während die Hb(2)-Zellen eine Milchsäureproduktion von 0,15 bis 0,2 μM/10^9 Zellen/3 h aufwiesen, war bei den Hb(3)-Zellen dieser Wert wesentlich geringer; oft war die Milchsäurebildung fast vollständig unterdrückt (Abb. 1).

Im Gemisch beider Zellarten konnte Milchsäure höchstens in Spuren festgestellt werden, die gesamte von den Hb(2)-Zellen des Gemischs zu produzierende Milchsäure war entweder nicht gebildet worden oder wurde wieder beseitigt.

II.

Um über das Schicksal der Milchsäure nähere Aufklärung zu erlangen, untersuchten wir in gleichen Versuchsansätzen das Verhalten der Brenztraubensäure, die bei einer Oxydation der Milchsäure entstehen sollte. Während die Brenztraubensäurebildung bei den Hb(2)-Zellen um die Hälfte bis ein Drittel geringer ist als die Milchsäureproduktion, ist sie bei den Hb(3)-Zellen recht erheblich, während die Milchsäurebildung stark zurücktritt. Im Gemisch beider Zellarten finden wir die gleichen Verhältnisse wie bei den Hb(3)-Zellen (Abb. 1).

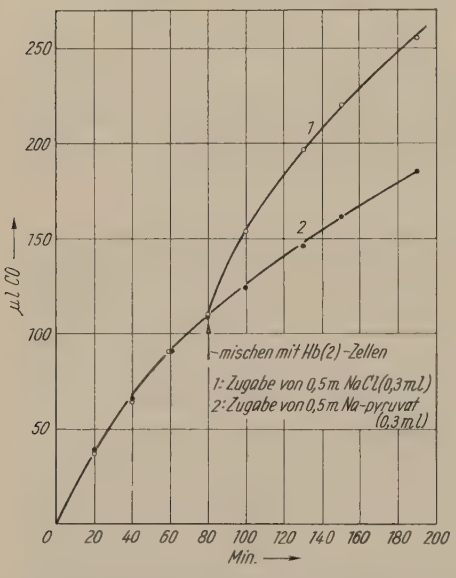


Abb. 2. Beschleunigung der Hb(3)-Reduktion in Erythrocyten durch Zumischen von Hb(2)-Zellen im Doppelgefäß. Kurve 1: 0,3 ml 0,5 m NaCl wurden im Augenblick des Zumischens der Hb(2)-Zellen zugekippt. Kurve 2: An Stelle von NaCl wurden zum gleichen Zeitpunkt 0,3 ml 0,5 m Na-Pyruvat zugegeben. Temperatur: 37° C; Gasraum CO; ohne Substratzusatz.

III.

Bei allen Versuchen wurde zur Kontrolle auch die Hb(3)-Rückbildung verfolgt. Es ergab sich das gleiche Bild wie bei den früheren Versuchen: In den Ansätzen mit Hb(2)-Zellen fand keine wesentliche Veränderung des Blutfarbstoffs in den Zellen statt; in den Proben mit Hb(3)-Zellen lief die Rückbildung des Hb(3) mit der üblichen Geschwindigkeit ab. Würde keine Beeinflussung der beiden Zellarten aufeinander bestehen, so müßten die Hb(3)-Werte im Gemisch durch die Mittelwerte der Hb(3)- und Hb(2)-Zellen gegeben sein. In der Tat sind aber die gemessenen Hb(3)-Werte beträchtlich niedriger, ein Zeichen für die beschleunigte Hb(3)-Rückbildung durch die zugemischten Hb(2)-Zellen (Abb. 1).

IV.

Nunmehr war noch aufzuklären, wodurch die unterschiedliche Beschleunigung der Rückbildung in Hb(3)-Zellen durch die Hb(2)-Zellen

verschiedener Tierarten zustande kommt. Wenn unsere Annahme zu Recht besteht, müßten das Ausmaß der Rückbildungsbeschleunigung und die Milchsäurebildung in den beschleunigenden Zellen annähernd proportional sein, oder zumindest müßten sich die Zellarten bei beiden Vorgängen in der gleichen Reihenfolge ordnen lassen. Zwar ergab sich keine strenge Proportionalität, aber es ließ sich in der Tat nachweisen, daß die Kaninchenzellen, welche die stärkste Rückbildungsbeschleunigung im Mischeffekt zeigen, auch die größte Milchsäurebildung aufweisen, während die Pferdeerythrocyten, die im Mischversuch nur eine sehr geringe Beschleunigung der Rückbildung verursachen, auch nur eine unbedeutende Milchsäurebildung haben. Die menschlichen roten Blutzellen stehen dazwischen, sowohl, was die Beschleunigung im Mischeffekt, als auch was die Milchsäureproduktion betrifft (Tab. 1).

Tabelle 1.

Hb(3)-Zellen	zugemischte Zellen	CO-Absorption μ 1/120 min	Milchsäurebildung der zugemischten Zellen μ M/10^9Zellen/120 min
Kaninchen	—	162	—
Kaninchen	Pferd Hb(2)	185	0,013
Kaninchen	Mensch Hb(2)	199	0,070
Kaninchen	Kaninchen Hb(2)	247	0,150

V.

Da wir in unseren ersten Versuchen gefunden hatten, daß reticulocytenreiche Blutsuspensionen eine geringere Wirkung im Mischversuch entfalten als reticulocytenarme Fraktionen, untersuchten wir auch bei solchen die Milchsäurebildung. Unsere Vermutung, daß sie in den Reticulocyten geringer ist, wurde bestätigt. Reticulocytenreicheres Blut zeigt bei geringerer Wirkung im Mischversuch eine geringere Milchsäureproduktion als reticulocytenarme Fraktionen (Tab. 2).

Tabelle 2.

Hb(3)-Zellen	zugemischte Zellen	CO-Absorption 1/10^9 Zellen/180 min	Milchsäurebildung der zugemischten Zellen M/10^9 Zellen/120 min
Kaninchen	—	48	—
Kaninchen	Kaninchen-Hb(2) 2% Rc.	87	0,33
Kaninchen	Kaninchen-Hb(2) 20% Rc.	64	0,24

VI.

Zum Studium des am Mischeffekt beteiligten Fermentmechanismus führten wir Mischversuche im Doppelgefäß durch, bei denen wir zum Zeitpunkt der Mischung beider Zellarten brenztraubensaures Natrium zukippten, so daß eine 0,1 molare Endkonzentration vorlag. Im Kontroll-Doppelgefäß wurde beim Mischen die gleiche Konzentration NaCl zugegeben, so daß annähernd gleiche osmotische Bedingungen in beiden Gefäßen herrschten. Aus den Versuchen geht eindeutig hervor, daß die Anwesenheit von 0,1 M Pyruvat den Mischeffekt unterdrückt, daß aber die spontane Rückbildung ungestört weiterläuft. Im Gefäß ohne Pyruvatzusatz zeigte sich der erwartete Mischeffekt, die Beschleunigung durch die zugegebenen Hb(2)-Zellen (Abb. 2).

Diskussion.

Hb(3) kann in den roten Blutzellen schon ohne Zusatz eines Substrats reduziert werden. Eine Beschleunigung dieser „spontanen" Hb(3)-Rückbildung wird durch Glucose und Lactat unter Verbrauch dieser beiden Substrate erzielt. Andere Substrate (Glutathion, Ascorbinat) sind unter physiologischen Bedingungen ohne Bedeutung, wie Kiese nachweisen konnte.

Am übersichtlichsten ist die Reduktion des Hb(3) durch Lactat, welches je Mol 2 Äquivalente Hb(3) reduziert, wobei ein Mol Pyruvat und 2 Äquivalente H^+ auftreten. Diese Reaktion ist durch Pyruvat hemmbar. Glucose kann einerseits nach Phosphorylierung und Abbau bis zum 3-Phosphoglycerinaldehyd das Hb(3) reduzieren, wobei im weiteren Verlauf ebenfalls Pyruvat auftritt, andererseits kann der Abbau des Glucose-6-Phosphats nach dem von Warburg vorgeschlagenen Schema über Gluconsäure und Keto-Gluconsäure unter Decarboxylierung zur Ribose führen und dabei mit der Reduktion des Hb(3) gekoppelt sein. Bei diesem, durch Thionin und Methylenblau aktivierbaren Prozeß tritt kein Pyruvat auf.

Man kann den von uns beobachteten Mischeffekt auf Grund der geschilderten Versuche als eine Wirkung der von den Hb(3)-freien Zellen gelieferten Milchsäure ansehen. Belege in dieser Richtung sind das Verschwinden des von Hb(2)-Zellen gebildeten Lactats in Gegenwart von Hb(3)-Zellen und die Bildung von Pyruvat an dessen Stelle; weiter die Tatsache, daß die Summe von Pyruvat und Lactat in allen Ansätzen eines Mischversuchs gleich ist — sowohl bei den Hb(2)-, den Hb(3)-Zellen und in deren Gemisch (was aus Abb. 1 ohne weiteres hervorgeht), und vor allem auch die Beobachtung, daß Pyruvat den Mischeffekt hemmt. Dieser letzte Befund weist unmittelbar auf die Rolle der Milchsäuredehydrogenase für den Mischeffekt hin. In gleicher Richtung ist auch die geringere Wirkung der Reticulocyten zu verstehen, die ja stärker

atmen und weniger Milchsäure bilden; ebenso ist auch die unterschiedliche Wirkung der Erythrocyten verschiedener Tiere zu deuten. Rein quantitativ stimmt auch die Menge zusätzlich rückgebildeten Methämoglobins mit der Menge neugebildeten Pyruvats überein: So wurde in einem Versuch 0,5 $\times 10^{-3}$ mÄq Hb(3)/10^9 Zellen mehr reduziert, wenn an Stelle von 0,22 $\times 10^{-3}$ mÄq Lactat/10^9 Zellen die entsprechende Menge Pyruvat gebildet wurde.

Aus unseren Versuchen geht weiter hervor, daß der Abbau des in den Zellen vorhandenen nicht auswaschbaren Stoffwechselsubstrats zu Pyruvat oder Lactat mit der gleichen Geschwindigkeit abläuft, unabhängig davon, ob Hb(3) oder Hb(2) anwesend ist. Somit dürften die fermentativen Prozesse im Verlauf dieses Abbaus unbeeinflußbar durch anwesendes Hb(3) sein. Wir werden später mitteilen, daß aber der Schwund des nicht auswaschbaren Substrats selbst die Aktivität dieser Prozesse in Mitleidenschaft zieht.

Kiese hat zeigen können, daß die Pyruvatbildung in Hb(3)-Zellen geringer ist, als die Lactatbildung in Hb(2)-Zellen, und betrachtet diesen Vorgang als ein Modell des *Pasteureffektes*. Allerdings wurden diese Versuche mit Glucose als Substrat durchgeführt. Unsere Ergebnisse ohne Substratzusatz, die eine Äquivalenz von Lactat- und Pyruvatbildung bei Hb(2)- und Hb(3)-Zellen zeigen, widersprechen den Kieseschen Befunden nicht, sondern erweitern die Kenntnisse über dieses Problem. Faßt man den Pasteureffekt lediglich als Unterdrückung der Milchsäurebildung auf, ohne die Pyruvatbildung zu berücksichtigen, so kann man auch in unserem Fall von einem solchen Effekt sprechen. Ist man aber geneigt, die Hemmung der Gärung in ihrem Gesamtverlauf als Charakteristikum des Effekts anzusehen, so kann man nur im Kieseschen Versuch diese Bedingung als erfüllt ansehen. Dann wäre das verschiedene Substrat ein Hinweis auf die Natur des Effekts, und die Weiterführung unserer Versuche — einmal in Richtung auf die Natur des nicht auswaschbaren Substrats, zum anderen auf die Eigenschaften des Milchsäuredehydrogenasesystems — könnte der weiteren Aufklärung des Pasteureffekts dienen.

Wenn wir in den bisherigen Diskussionen die Milchsäure besonders herausgestellt haben, so deshalb, weil in dem betrachteten System keine andere Möglichkeit offen erscheint. Nicht ausgeschlossen wird durch unsere Versuche, daß der Mischeffekt durch eine schnell diffusible Vorstufe derselben zustande kommt.

Der Mischeffekt selbst hat seine Bedeutung für die wechselseitige Beeinflussung der Zellen und ihrer Stoffwechselsysteme, die oft nicht genügend beachtet wird. Sicherlich ist er nicht nur auf die Blutkörperchen beschränkt. Unter normalen Bedingungen wird er im Organismus nur

eine untergeordnete Rolle spielen. Ist aber im Falle einer Methämoglobinämie die Sauerstoffversorgung der Gewebe unzureichend, so werden die Zellen unter der sich entwickelnden Anaerobiose in zunehmendem Maße Milchsäure bilden, die dann die Rückbildung des Hb(3) beschleunigt und damit zur schnelleren Wiederherstellung des Blutfarbstoffs führt. Wir sehen also, daß die Hb(3)-Rückbildung in den Erythrocyten in ein sich selbst regulierendes System eingebaut ist, das nur verstanden werden kann, wenn man den Gesamtorganismus mit einbezieht.

Zusammenfassung.

1. Die Beschleunigung der Hb(3)-Rückbildung in Erythrocyten durch Zugabe Hb(3)-freier roter Blutzellen ist abhängig von der Milchsäurebildung der zugemischten Zellen.

2. Der Mischeffekt ist durch Brenztraubensäure hemmbar.

3. Die Bedeutung der Glykolysehemmung im Erythrocyten durch Hb(3) wird diskutiert.

4. Die Hb(3)-Reduktion in den Erythrocyten ist nur *ein* Glied eines sich selbst regulierenden Systems, das der Erhaltung des Blutfarbstoffs in funktionsfähigem Zustand dient, und in das der Gesamtorganismus einbezogen ist.

Literatur.

Friedemann, T. E., and G. E. Haugen: J. of Biol. Chem. **147**, 415 (1943). — Jung, F., H. Matthies u. K. Onnen: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **222**, 474 (1954). — Kiese, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 288 (1947); **204**, 451 (1947). — Kubowitz, F.: Z. inn. Med. **7**, 856 (1952).

Dr. Hansjürgen Matthies,
Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Humboldt-Universität, Berlin.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 359—368 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle).

Über die Wirkung von Esteraseblockern (E 605, Eserin und Prostigmin) auf das Atemzentrum von Katze und Hund.

Von
W.-D. Erdmann, H. D. Kempe und W. Lühning*.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Januar 1955.)

Bei der akuten Vergiftung des Warmblüters mit dem Insecticid E 605 (= Diäthyl-p-nitrophenyl-thiophosphat, „Parathion") treten schwere Zustände von Atemnot bis zur letalen Atemlähmung auf. Eine Erklärung für die dyspnoische Wirkung von E 605 wird meist darin gesehen, daß E 605 als Hemmstoff der Cholinesterase zu einer Erregung der parasympathisch innervierten Erfolgsorgane, und damit auch zu Bronchialspasmen führt (Dubois, Doull, Salerno u. Coon; Koelle u. Gilman). Nach den Untersuchungen verschiedener Autoren (zuletzt: Duensing u. Erdmann; Erdmann u. Schäfer) besitzt E 605 aber auch zentralnervös erregende und lähmende Wirkungen, so daß an die Möglichkeit einer frühzeitigen Beeinflussung des Atemzentrums durch E 605 gedacht werden muß.

Für andere, dem E 605 verwandte Phosphorsäureester sind neben dem Angriff an der Bronchialmuskulatur schon neuromuskulär lähmende und zentral lähmende Wirkungen nachgewiesen worden (de Candole u. Mitarb.). Dabei soll je nach Tierart die eine oder andere Wirkungsweise im Vordergrund stehen.

Für den pharmakologischen Nachweis eines direkten Angriffs am Atemzentrum sind neben einer Registrierung von Atemfrequenz und Atemvolumen die Erregbarkeitsverhältnisse des Atemzentrums selbst zu prüfen. Hierzu kann nach Rice und Wyss der linke zentrale Vagusstumpf afferent elektrisch gereizt werden. Während der Reizperiode erfolgt normalerweise ein Atemstillstand. Eine pharmakologische Erregung des Atemzentrums müßte sich demnach als verkürzter oder aufgehobener Atemstillstand, eine beginnende Lähmung als verlängerter Atemstillstand zeigen. Mit diesem Verfahren sollten vergleichend zu E 605 die cholinesterasehemmenden Stoffe Eserin und Prostigmin

* Durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

(= Neostigmin)[1] hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Erregbarkeit des Atemzentrums untersucht werden. Außerdem sollte die antagonistische Wirkung von Atropin und einigen anderen bei der E 605-Vergiftung therapeutisch verwendbaren Substanzen geprüft werden.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten 12 mit Morphin (4 mg/kg)-Chloralose (0,08 g/kg)-Urethan (0,25 g/kg) betäubte Hunde und 3 mit Chloralose (0,06 g/kg)-Urethan (0,25 g/kg) narkotisierte Katzen sowie 15 decerebrierte Katzen (Versuchsbeginn: 3 Std nach der Operation).

Die Atemexkursionen wurden mit einer Mareyschen Kapsel und das Atemminutenvolumen mit der Gasuhr nach Gildemeister am Rußkymographen registriert. Über eine Kanüle in einer A. carotis comm. wurde außerdem der arterielle Blutdruck aufgezeichnet. Beide Halsvagi wurden (zweizeitig!) durchschnitten. Mit Hilfe des Reizgerätes „Megatest“[2], das die unabhängige Einstellung von Impulsfrequenz, Impulsdauer und Stromstärke gestattet, wurde in Abständen von meist 3 min über eine Elektrode am linken zentralen Vagusstumpf eine supramaximale „zentrale Vagusreizung“ (zVR) durchgeführt. Reizdaten: 10—30 Imp/sec, 0,2 msec, 5—15 mA. Reizdauer: Meist 20 sec.

Die geprüften Substanzen wurden in die V. jugularis ext. injiziert. Bei 3 Katzen wurden die Substanzen durch einen Polyäthylenkatheter in der A. carotis ext. retrograd in die A. carotis int. injiziert. Bei einem Teil der Tiere wurden die Carotissinusnerven durchschnitten. Zur Injektion wurde aus dem Wirkstoff E 605 mit absol. Alkohol eine 1%ige Lösung hergestellt und diese mit Adhägon[3]-Ringer-Lösung eventuell auf 10^{-3} als Emulsion weiter verdünnt.

Ergebnisse.

A. Versuche mit E 605.

An 3 narkotisierten Katzen und 8 Hunden, sowie 7 decerebrierten Katzen führte die zügige i. v. Injektion von 1—3 mg/kg E 605 zu kurzfristiger Blutdrucksenkung (etwa 3 min, vgl. Abb. 1a). Weiterhin kam es zu einer deutlichen Steigerung von Atemfrequenz (12 → 26/min) und Atemminutenvolumen (1250 → 1750 cm^3/min), wobei sich die Atemmittellage zur inspiratorischen Seite hin verschiebt. Der hemmende Vagusreizerfolg auf die Atmung wurde zunehmend geringer. Wenige Minuten später hatten sich — vgl. Abb. 1b — ein spastischer Atemtyp mit vermindertem Atemminutenvolumen (670 cm^3/min) und eine ausgeprägte Bradykardie entwickelt. Der Vagusreizerfolg war als Zeichen einer Erregung des Atemzentrums aufgehoben. In diesem Stadium der E 605-Vergiftung erfolgte die i. v. Injektion von 1 mg/kg Atropin. Es kam

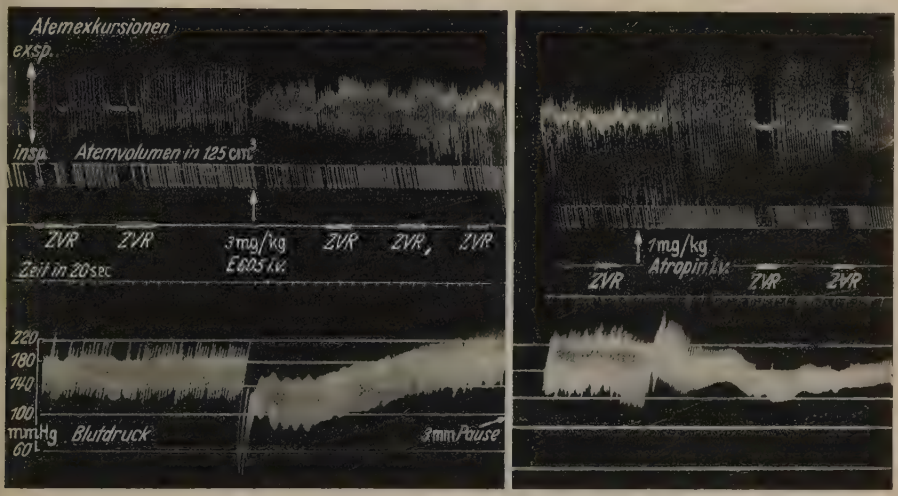
[1] Prostigmin = Dimethylcarbaminsäureester des m-Oxyphenyltrimethylammonium-methylsulfats.

[2] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Überlassung des Reizgerätes als Leihgabe.

[3] Adhägon = indifferentes Eiweißabbauprodukt (Heyden); als Stabilisator für feindisperse Suspensionen geeignet.

schlagartig zu einer Normalisierung von Herzfrequenz, Atemfrequenz, Atemvolumen und Vagusreizerfolg (Abb. 1b).

Zur Prüfung, ob die unter E 605 aufgetretenen Veränderungen wirklich Ausdruck einer direkten Erregung des Atemzentrums sind, mußten mögliche periphere E 605-Wirkungen (namentlich auf die Bronchialmuskulatur) ausgeschlossen werden. Hierzu wurden zunächst Versuche mit i. v. Injektion von Papaverin (2 mg/kg bis mehrmals 10 mg/kg) in der Annahme durchgeführt, daß die spasmolytische Wirkung von Papaverin die peripheren Wirkungen von E 605 am glatten Muskel aufheben würde,



a *b*

Abb. 1*a*. Hund; 17.7.53. Narkose: Morphin-Chloralose-Urethan. Technik der Registrierung vgl. im Text. Wirkung von E 605 (3 mg/kg i. v.) auf die Atmung. Der hemmende Vagusreizerfolg auf die Atmung wird geringer.

Abb. 1*b*. Antagonistische Wirkung von Atropin (1 mg/kg i. v.) auf die durch E 605 bewirkten Atemveränderungen.

ohne seine zentralen Wirkungen zu beeinflussen. Hierbei zeigten sich Eigenwirkungen von Papaverin im Sinne einer Atmungsanregung (vgl. Kempe), die das oben beschriebene Vergiftungsbild von E 605 überlagerten. Eine überzeugende spasmolytische Wirkung auf die Atmung war nicht zu beobachten. Es wurde daher versucht, mit Hilfe von sehr kleinen intraarteriellen (A. carotis int.) E 605-Dosen, bei denen mit einer peripheren Wirkung noch nicht gerechnet werden kann, den zentralen Angriffspunkt von E 605 nachzuweisen. In der Tat ist durch die Injektion von 0,1—0,5 mg/kg E 605 in die A. carotis int. (retrograd durch die A. carotis ext.) das gleiche Bild, wie es oben für die i.v. Injektion beschrieben wurde, herbeizuführen. Ein spastischer Atemtyp war hierbei natürlich nicht zu beobachten. Die atemerregende Wirkung von E 605

ließ sich durch intraarterielle Injektion von 0,02—0,04 mg/kg Atropin aufheben. Bei diesen Versuchen waren außerdem die Carotissinus beiderseits denerviert worden, um hier angreifende pharmakologische Wirkungen ausschließen zu können[1]. Die mit dieser Versuchsanordnung erhaltenen Ergebnisse sprechen für einen direkten Angriff von E 605 und seinem Antagonisten Atropin am Atemzentrum.

Eine im Stadium der Atemerregung erfolgende Atropininjektion (vgl. Abb. 1b) ist insofern lebensrettend, als die Atmung normalisiert wird und die gewöhnlich nachfolgende Atemlähmung nicht eintritt. Die beschriebene Atemerregung pflegt nämlich nach einiger Zeit (mitunter erst

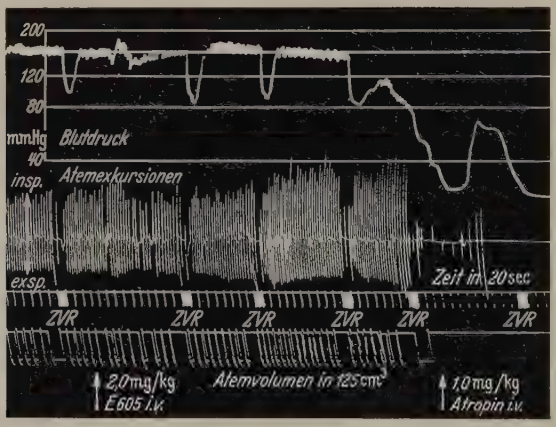


Abb. 2. Katze 2,33 kg. Narkose: Chloralose-Urethan. Bivagotomie. Technik der Registrierung vgl. im Text. Die letale Atem- (und Kreislauf-)lähmung erfolgt häufig im Anschluß an eine zentrale Vagusreizung. Atropin ist zu diesem Zeitpunkt wirkungslos.

nach 20 min) in eine zentrale Atemlähmung mit überraschendem Blutdrucksturz umzuschlagen (Abb. 2). Meist tritt die Atemlähmung dann unmittelbar im Anschluß an eine Reizung des zentralen Vagusstumpfes auf (bei Versuchen *ohne* zentrale Vagusreizung kommt es erst mit höheren Dosen von E 605 zur letalen Atemlähmung). Eine Injektion von Atropin hat zu diesem Zeitpunkt der Vergiftung keine therapeutische Wirkung mehr.

Die i. v. Injektion höherer Dosen von E 605 (10—20 mg/kg bei 5 Hunden und 3 Katzen) führt meist ohne ein initiales Erregungsstadium sehr schnell zu Atemstillstand und Tod. Auch durch peripher wirksame Kreislaufmittel wie Sympatol (5 mg/Tier) oder Adrenalin (bis 100 γ/Tier) sowie durch Analeptica wie Cardiazol (10 mg/kg) läßt sich der Exitus let.

[1] Liljestrand u. Zotterman haben gezeigt, daß cholinesterasehemmende Substanzen die Atmung auch auf dem Wege über eine Erregung der Chemoreceptoren des Carotissinus beeinflussen können. Die hierzu benötigten Dosen sind allerdings außerordentlich hoch (0,5 mg Mintacol bzw. 6 mg DFP lokal!).

nicht verhindern, es sei denn, daß gleichzeitig die künstliche Beatmung eingeleitet wird.

Wegen ihres zentral dämpfenden Wirkungscharakters erschien es sinnvoll, die modernen Phenothiazinderivate auf eine mögliche antagonistische Wirksamkeit gegen die durch E 605 ausgelöste zentrale Atemerregung oder auch -lähmung zu prüfen. In jedem Stadium der E 605-Vergiftung (Atemerregung *und* beginnende Atemlähmung) führt die i. v. Injektion von Phenothiazinderivaten (2 mg/kg Atosil[1]; 0,5—1,0 mg/kg Megaphen[2]; 1—5 mg/kg Latibon[3]) und von Parpanit[4] (2—10 mg/kg i. v.) stets zu akuter Blutdrucksenkung und zum tödlichen Atemstillstand (Abb. 3). Megaphen und Latibon wurden an je 3 decerebrierten Katzen, Atosil und Parpanit an je 2 narkotisierten Tieren geprüft.

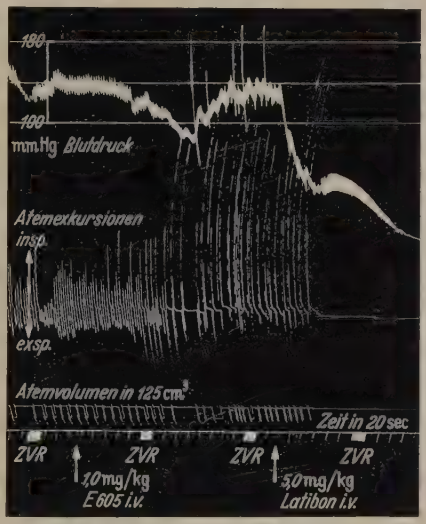


Abb. 3. Katze 2,53 kg. Decerebriert und bivagotomiert. Technik der Registrierung vgl. im Text. Wirkung von Latibon (5 mg/kg i. v.) auf die durch E 605 (insges. 5 mg/kg i. v.) ausgelöste Atemerregung.

Wie aus den relativ ungenauen Angaben über die effektiven E 605-Dosen (vgl. 1 bis 3 mg/kg bzw. 10—20 mg/kg) hervorgeht, lassen sich als wirksame Grenzdosen keine allgemeingültigen Werte ermitteln. Es ist auch von anderen Autoren (vgl. Wilhelmi u. Domenjoz) auf die sehr unterschiedliche individuelle Empfindlichkeit der Versuchstiere gegenüber E 605 hingewiesen worden. Die Annahme, daß sich an nicht betäubten, decerebrierten Katzen die Grenzdosierung für Atmungserregung und -lähmung mittels Dauerinfusion von E 605 genauer festlegen ließe, erwies sich als nicht zutreffend. Bei der Dauerinfusion von E 605 tritt — namentlich bei niedriger Infusionsgeschwindigkeit — ein Erregungsstadium der Atmung praktisch überhaupt nicht auf: Es kommt meist ohne Anzeichen einer vorausgehenden Erregung des Atemzentrums zur Atemlähmung. Die Grenzdosen für die Atemlähmung liegen bei allen Infusionsgeschwindigkeiten zwischen 10 und 20 mg/kg.

---

[1] Atosil = Phenergan = N-(3′dimethylamino-2′methyl-äthyl) phenothiazin.

[2] Megaphen = Chlorpromazin, Largactil = N-(3′dimethylaminopropyl) 3-chlorphenothiazin.

[3] Latibon = Diparcol = N-(3′diäthylaminoäthyl) phenothiazin.

[4] Parpanit = 1-Phenylcyclopentan-1-carbonsäurediäthylaminoäthylester-HCl.

B. Versuche mit Eserin und Prostigmin.

An betäubten Katzen (1) und Hunden (5) sowie an decerebrierten Katzen (2) führt die i. v. Injektion von 0,5—2,0 mg/kg Eserin bereits zur Steigerung von Atemfrequenz (um 77%) und Atemminutenvolumen (um 38%), zur Bradykardie und zur Aufhebung des Vagusreizerfolges auf die Atmung. Es war also praktisch das gleiche Bild, wie es oben für E 605 beschrieben wurde. Es kann daher auf eine Abbildung verzichtet werden. Atropin (1 mg/kg i. v.) normalisiert auch hier augenblicklich alle eingetretenen Veränderungen[1]. Eine Atemlähmung tritt mit etwa 4 mg/kg Eserin ein; sie ist durch Atropin nicht zu beeinflussen.

I. v. Injektionen von Prostigmin (0,1—0,5 mg/kg an 5 decerebrierten Katzen) führen — im Gegensatz zu den mit E 605 und Eserin erhaltenen Ergebnissen — meist zu geringer Verminderung von Atemfrequenz (um 14%) und -volumen (um 21%) unter leichter Blutdrucksteigerung (um 20—50 mm Hg) und bei praktisch unverändertem Vagusreizerfolg. Atropin (1 mg/kg i. v.) löst den spastischen Atemtyp und normalisiert somit auch Atemfrequenz und -volumen. Einen Einfluß von Prostigmin auf die Erregungslage des Atemzentrums konnten wir bei dieser Versuchsanordnung nicht beobachten. Allerdings sahen wir in einem Versuch, daß die intraarterielle Injektion (A. carotis int.) von insgesamt 0,25 mg/kg Prostigmin neben einer leichten Steigerung von Atemfrequenz (13 → 16/min), Atemvolumen (530 → 564 cm^3/min) und Blutdruck (180 → 230 mm Hg) zur völligen Aufhebung des Vagusreizerfolges führte. Ein deutlicher Antagonismus von Atropin (2 × 0,5 mg/kg intraarteriell) war dabei allerdings nicht zu beobachten.

Besprechung der Ergebnisse.

Eine kritische Betrachtung der erhaltenen Ergebnisse erfordert die besondere Besprechung folgender Gesichtspunkte:

1. Die Frage nach der Eignung der verwendeten Methodik für den Nachweis einer zentralen Atemwirkung der geprüften cholinesterasehemmenden Substanzen.

2. Die Frage, ob die verschiedene Wirkung von Prostigmin einerseits und Eserin und E 605 andererseits mit Hilfe der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Substanzen erklärt werden kann. Hierbei wären auch die gefundenen Antagonismen zu berücksichtigen.

[1] In einem Versuch konnten wir beobachten, daß ein 3 Std zuvor mit Eserin (2 mg/kg i. v.) behandelter Hund bis zum letalen Atemstillstand eine i. v. Dosis von insgesamt 373 mg/kg E 605 benötigte. Bis zum Tode war keine Abschwächung oder Verlängerung des zentralen Vagusreizerfolges zu verzeichnen. Eine starke Erhöhung der Letaldosis von E 605 durch Vorbehandlung mit Eserin ist auch von Salerno u. Coon beschrieben worden. Es war jedoch nicht Ziel unserer Untersuchung, den Einfluß prophylaktischer Maßnahmen (Atropinisierung, Eserinisierung usw.) zu prüfen.

Zu 1. Für die Deutung einer pharmakologisch bedingten Abschwächung oder Aufhebung des unter afferenter elektrischer Vagusreizung auftretenden Atemstillstandes müssen alle Faktoren, die an der Entstehung dieses Effektes beteiligt sein können, berücksichtigt werden. Diese sind:

a) Eine Abnahme der nervösen Erregbarkeit des N. vagus (z. B. Polarisation am Nerven, O_2-Mangel, mechanische Schädigung). Gegen diese Möglichkeit spricht die bei unveränderten Reizbedingungen beobachtete spontane Reversibilität sowie die antagonistische Beeinflußbarkeit der Wirkungen.

b) Eine indirekte Wirkung des Pharmakons auf das Atemzentrum über eine durch Blutdrucksenkung oder Bronchospasmus bedingte CO_2-Anreicherung des Blutes. Da die verwendeten Substanzen in der Tat bronchospastische Eigenwirkungen (Du Bois u. Mitarb., Koelle u. Gilman) besitzen, konnte diese — eine zentrale Atemanregung vortäuschende — Wirkungsweise nur durch intraarterielle Applikation (A. carotis) kleiner Wirkstoffdosen ausgeschlossen werden.

c) Eine indirekte Wirkung des Pharmakons auf das Atemzentrum über eine Erregung der Chemoreceptoren im Carotissinus. Erregende Wirkungen von cholinesterasehemmenden Substanzen auf die Chemoreceptoren sind bekannt (Liljestrand u. Zotterman). In mehreren Versuchen an Tieren mit denerviertem Carotissinus zeigte sich jedoch das gleiche Wirkungsbild wie bei den übrigen Versuchen, so daß diese Erklärungsmöglichkeit für das Zustandekommen der Atemerregung entfällt.

d) Ein direkter Angriff des Pharmakons am Atemzentrum. Nach Ausschluß der unter a) bis c) genannten Faktoren erscheint dieser Mechanismus allein möglich, zumal auf Grund der Versuche mit intraarterieller (A. carotis) Injektion der geprüften Substanzen.

Im Gegensatz zu der eindeutigen Analyse der zentralen Atem*erregung* war mit der von uns verwendeten Methodik eine sichere Aussage über den Mechanismus der atem*lähmenden* Wirkung der geprüften Substanzen nicht möglich, da bei den benutzten Dosen der cholinesterasehemmenden Substanzen (auch in den Versuchen mit intraarterieller Injektion) mit einer überlagernden peripheren Lähmung (z. B. der neuromuskulären Synapsen des Zwerchfells) durchaus gerechnet werden muß (vgl. de Candole et al.). Für den Nachweis oder Ausschluß einer solchen peripheren Wirkungsweise ist die oszillographische Technik (vgl. Frey, Göpfert u. Raule) oder auch die von Eichholtz u. Taugner angegebene Methodik geeignet[1]. Eine zentrale Atemlähmung könnte schließlich aber durch eine Lähmung von Synapsen oder Interneuronen im Rückenmark vorgetäuscht werden, woran nach den Untersuchungen von Erdmann u. Schäfer zu denken ist.

[1] In einigen ergänzenden Versuchen wurde nach Eintritt der letalen Atemlähmung der N. phrenicus elektrisch gereizt. Hierbei erschien die neuromuskuläre Erregungsübertragung erhalten.

Zu 2. Es liegt natürlich nahe, die zentralen Atemwirkungen von Prostigmin, Eserin und E 605 mit ihrer bekannten Eigenschaft, die Cholinesterase zu hemmen, in kausalen Zusammenhang zu bringen. Da aber E 605 (1—3 mg/kg i. v.) und Eserin (0,5—2,0 mg/kg i. v.) eine deutlich erregende Wirkung auf das Atemzentrum besitzen, die dem Prostigmin fehlt (0,1—0,5 mg/kg i. v.), müßte logischerweise erwartet werden, daß E 605 und Eserin die Cholinesterase des Gehirns zu hemmen vermögen, Prostigmin dagegen nicht. Ein solcher Befund wäre deswegen bemerkenswert, weil Prostigmin als Hemmstoff der Cholinesterase in vitro und in vivo (periphere Wirkungen, Kaninchenherz) etwa 1000mal wirksamer als Eserin ist (Genuit u. Labenz).

In der Tat zeigen die Untersuchungen von Herken u. Neubert, daß der Acetylcholingehalt des Gehirns (normal 2,4 $\pm$ 0,15 γ/g) durch Einwirkung von 1 mg/kg (!) Prostigmin praktisch kaum verändert wird (2,7 $\pm$ 0,36 γ/g), während 3 mg/kg Eserin eine starke Acethylcholinvermehrung (5,2 $\pm$ 0,35 γ/g) verursachen. Mintacol (= Diäthyl-p-nitrophenylphosphat), eine Substanz, die dem E 605 sehr nahe verwandt ist, führt bei der gleichen Versuchsanordnung ebenfalls zu einem erheblichen Ansteigen des Acetylcholingehaltes im Gehirn, erreicht aber offenbar nicht die gleiche Wirkungsstärke wie Eserin.

In einem gewissen Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse von Dubois u. Mitarb., wonach Eserin (5 mg/kg) die Cholinesterase des Gehirns von Ratten um nur 12% hemmt, während die gleiche Dosis E 605 eine 85%ige Cholinesterasehemmung herbeiführt.

Als Erklärung für die unterschiedliche zentralnervöse Wirkung von Eserin und Prostigmin sind wiederholt die physikalisch-chemischen Eigenschaften dieser beiden Substanzen herangezogen worden (Schweitzer u. Mitarb., Grundfest, Nachmansohn u. Mitarb., Herken u. Neubert u. v. a.). Prostigmin besitzt als quaternäre Ammoniumverbindung eine starke positive Ladung und ist leicht wasserlöslich. Dem Eserin als tertiärem Amin fehlt dagegen ein ausgesprochener Ladungscharakter: es ist auch vorwiegend fettlöslich. Ein Penetrationsvermögen in das lipoide Substrat des ZNS, das sowohl von den Löslichkeitsbedingungen der penetrierenden Substanz als auch von ihrem Ladungscharakter (Durchtritt durch Membranen?) abhängen soll, wird demnach eher dem Eserin als dem Prostigmin zukommen. Die Ergebnisse unserer Versuche lassen sich in diesem Sinne deuten: E 605 als rein fettlösliche Verbindung mit indifferentem Ladungscharakter dürfte dann weitgehend der Wirkungsweise von Eserin entsprechen.

Ein maximales Angebot von Prostigmin an das ZNS, wie es mit Hilfe intraarterieller (A. carotis) Injektionen möglich ist, vermag schließlich auch atemerregende Wirkungen zu erzielen (vgl. S. 364). Diese sind aber — zumal im Hinblick auf den fehlenden antagonistischen Effekt von Atropin — möglicherweise Ausdruck einer unspezifischen Prostigminwirkung.

Für die Annahme einer durch Hemmung der Cholinesterase bewirkten Erregung des Atemzentrums nach Injektion von E 605 und Eserin spricht auch die antagonistische Wirksamkeit von Atropin, besonders bei

Injektion in die A. carotis. Man kann demnach diskutieren, ob die Erregungsübertragung im Atemzentrum einem cholinergen Mechanismus folgt. Nach Miller werden sowohl durch lokale Applikation von Acetylcholin (5×10^{-7}) in den 4. Ventrikel als auch durch i. v. Injektion von Eserin (0,15 mg/kg) eine Erregung des Atemzentrums herbeigeführt, die durch i. v. Gabe von Atropin aufzuheben ist.

Ob auch die Atemlähmung auf einer Cholinesterasehemmung durch die geprüften Stoffe im Gebiet des Atemzentrums — vielleicht im Sinne einer zentralen Wedensky-Hemmung — beruht, kann von uns nicht entschieden werden (vgl. auch unter 1). Für das E 605 ist jedenfalls sicher, daß es zu zentralnervösen Lähmungen führen kann, und daß sich diese nicht immer als Folge einer Cholinesterasehemmung im ZNS erklären lassen (näheres bei Erdmann u. Schäfer).

Abschließend sei auf die ungünstige Wirkung der von uns geprüften Phenothiazinderivate am mit E 605 bzw. Eserin vergifteten Tier hingewiesen:

Da die zentral (atem-)erregenden Wirkungen der cholinesterasehemmenden Stoffe Eserin und E 605 ihren nicotinartigen Eigenschaften zugeschrieben werden können, erschien ein antagonistischer Effekt der Nicotinolytica aus der Phenothiazinreihe durchaus möglich[1]. Auch die antagonistische Wirksamkeit hoher Atropindosen gegen die durch Eserin und E 605 ausgelöste Erregung des Atemzentrums ist wohl als eine Antinicotinwirkung von Atropin aufzufassen (vgl. Dutta; Konzett u. Rothlin; Cahen u. Tvede; Fink u. Cervoni; Malorny u. Ohnesorge).

Die Versuche zeigten jedoch, daß die Phenothiazine die Toxicität von Eserin und E 605 erhöhen, ohne — etwa in geringeren Dosen — die zentrale Atemerregung spezifisch zu beeinflussen. Bemerkenswert war hierbei insbesondere die außerordentlich starke blutdrucksenkende Wirkung von Megaphen, Latibon und Atosil, die schon mit sehr geringen Dosen zu lebensbedrohlichem Kreislaufkollaps führen.

Wilhelmi u. Domenjoz haben mit Latibon und Atosil, Hazleton mit Latibon ebenfalls keinen therapeutischen Effekt bei der E 605-Vergiftung erzielen können. Die Sterblichkeit der Tiere wird nach diesen Autoren durch die genannten Stoffe sogar erhöht.

Dahlbom, Diamant, Edlund, Ekstrand u. Holmstedt beschreiben dagegen eine Schutzwirkung verschiedenster Phenothiazinderivate gegen die Vergiftung (gemessen am Herzstillstand) durch den Phosphorsäureester Tabun (Dimethylamido-äthoxyphosphorylcyanid). Dieser Befund könnte unseres Erachtens allerdings auch Ausdruck einer unspezifischen narkotischen Schutzwirkung sein, da echte Narkotica die Letaldosen der Phosphorsäureester zu erhöhen pflegen (Enders u. Ruf).

Zusammenfassung.

1. An narkotisierten Hunden und narkotisierten oder decerebrierten Katzen führt die i. v. Injektion von E 605 (1—3 mg/kg) oder Eserin (0,5—2 mg/kg) zu einer Steigerung von Atemfrequenz und

[1] Wirth beobachtete am narkotisierten Kaninchen mit herabgesetzter Atemtiefe eine deutliche atemanaleptische Wirkung von Latibon (persönl. Mitteilung).

Atemminutenvolumen, sowie zu einer Aufhebung des Vagusreizerfolges auf die Atmung (als Ausdruck einer Erregung des Atemzentrums). Die Wirkung ist durch i. v. Injektion von Atropin (1 mg/kg), nicht aber durch Phenothiazine, aufzuheben. Nach höheren Dosen von E 605 (10—20 mg/kg) oder Eserin (4 mg/kg) kommt es zu einer letalen Atemlähmung.

2. Die intraarterielle Injektion (A. carotis int.) von E 605 (0,1 bis 0,5 mg/kg) bewirkt die gleichen Veränderungen, die ebenfalls durch Atropin (0,02—0,04 mg/kg) antagonistisch zu beeinflussen sind. Ein Angriff am Atemzentrum erscheint somit gesichert.

3. Die i. v. Injektion von Prostigmin (0,1—0,5 mg/kg) hat keine, die i. a. Injektion erst in abnorm hohen Dosen (0,25 mg/kg) eine geringe erregende Wirkung auf die Atmung.

4. Zur Erklärung für die unterschiedliche Wirksamkeit von E 605, Eserin und Prostigmin auf das Atemzentrum werden die verschiedenen physikalisch-chemischen Eigenschaften der drei geprüften cholinesterasehemmenden Substanzen (Löslichkeitsbedingungen, Ladungscharakter) herangezogen.

Literatur.

Cahen, R. L., et K. M. Tvede: Arch. internat. Pharmacodynamie **94**, 248 (1953). — de Candole, C. A., W. W. Douglas, C. L. Evans, R. Holmes, K. E. V. Spencer, R. W. Torrance and K. M. Wilson: Brit. J. Pharmacol. **8**, 466 (1953). — Dahlbom, R., H. Diamant, T. Edlund, T. Ekstrand u. B. Holmstedt: Acta pharmacol. (Kopenh.) **9**, 163 (1953). — Dubois, K. P., J. Doull, P. R. Salerno and J. M. Coon: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **95**, 79 (1949). — Duensing, F., u. W.-D. Erdmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 506 (1954). — Dutta, N. K.: Brit. J. Pharmacol. **4**, 197 (1949). — Eichholtz, F., u. R. Taugner: Pflügers Arch. **254**, 267 (1951). — Enders, A., u. H. Ruf: Arch. internat. Pharmacodynamie **90**, 175 (1952). — Erdmann, W.-D., u. K. P. Schaefer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 519 (1954). — Fink, L. D., and P. Cervoni: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 372 (1953). — Frey, R., H. Göpfert u. W. Raule: Anaesthesist (Berlin) **1**, 33 (1952). — Genuit, H., u. K. Labenz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 375 (1941). — Gildemeister, M., u. W. Heubner: Z. exper. Med. **13**, 291 (1921). — Grundfest, H., D. Nachmansohn, C. Y. Kao and R. Chambers: Nature (Lond.) **169**, 190 (1952). — Hazleton, L. W., E. G. Holland and R. C. Hellermann: Federat. Proc. **9**, 283 (1950). — Herken, H., u. D. Neubert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 223 (1953). — Kempe, H. D.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 541 (1954). — Koelle, G. B., and A. Gilman: Pharmacol. Rev. **1**, 166 (1949). — Konzett, H., u. E. Rothlin: Helvet. physiol. Acta **7**, C 46 (1949). — Experientia (Basel) **9**, 405 (1953). — Liljestrand, G., u. Y. Zotterman: Acta physiol. scand. (Stockh.) **31**, 203 (1954). — Malorny, G. u. F. K. Ohnesorge: Klin. Wschr. **1954**, 288. — Miller, F. R.: Canad. J. Res. (Sect. E) **27**, 374 (1949), ref. Rona-Ber. **144**, 198 (1951). — Rice, H. V.: Amer. J. Physiol. **124**, 535 (1938). — Salerno, P. R. et J. M. Coon: Arch. internat. pharmacodynamie **84**, 227 (1950). — Schweitzer, A., E. Stedman and S. Wrigth: J. of Physiol **96**, 302 (1939). — Wilhelmi, G., et R. Domenjoz: Arch. internat. pharmacodynamie **86**, 321 (1951). — Wyss, O. A. M.: Pflügers Arch. **242**, 215 (1939).

Dr. W.-D. Erdmann, Dr. H. D. Kempe u. Dr. W. Lühning, Göttingen, Geiststr. 9, Pharmakologisches Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 369—380 (1955).

Aus dem Laboratorium der Chirurgischen Universitätsklinik
und der 1. Medizinischen Universitätsklinik München.

Zur Kenntnis der blutdrucksenkenden Wirkung des Trypsins.

Von
E. Werle, M. M. Forell und L. Maier.

Mit 19 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. November 1954.)

1. Zum Mechanismus der blutdrucksenkenden Wirkung des Trypsins[5].

Es ist seit langem bekannt, daß die i.v. Injektion von Trypsinpräparaten bei Hunden, Katzen und Kaninchen eine Blutdrucksenkung auslöst, die je nach dem Reinheitsgrad des Trypsins verschieden stark ausfällt. In einer früheren Untersuchung[11] konnte gezeigt werden, daß die

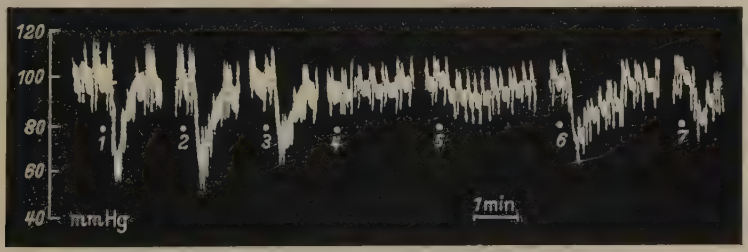


Abb. 1. Wirkung von Histamin, Trypsin und Kallikrein am Blutdruck des Hundes vor und nach Antistingabe. Hund, männlich, 16 kg, 100 mm Hg, Morphium-Pernocton-Narkose, Atropin; Carotisblutdruck, Ludwigsches Quecksilbermanometer. *1* 10 γ (= 0,1 cm³) Histamin; *2* 3 mg krist. Trypsin (= 0,3 cm³); *3* 0,5 K.E. Standard (= 0,5 cm³); *4* 100 mg Antistin (= 0,5 cm³); *5* 10 γ (= 0,1 cm³) Histamin, 4½ min nach Antistin; *6* 3 mg krist. Trypsin (= 0,3 cm³), 7 min nach Antistin; *7* 0,5 Kallikrein-Einheiten (K.E. Standard) (= 0,5 cm³), 13 min nach Antistin.

blutdrucksenkende Wirkung der Trypsinpräparate, die am Hund in Erscheinung tritt, praktisch vollkommen auf ihren Gehalt an Kallikrein zurückzuführen ist. Zwar wirkt auch kristallisiertes reines Trypsin blutdrucksenkend[3], doch, auf äquimolekulare Mengen bezogen, z. B. am Hund, sehr viel schwächer als Kallikrein[7].

Über die Ursachen der Blutdruckwirkung des Trypsins ist folgendes bekannt: Trypsin vermag auf Grund seiner proteolytischen Aktivität aus histaminhaltigem Gewebe, z. B. aus der Lunge, Histamin freizulegen[1]. Da die Vorbehandlung eines Versuchstieres mit einem Antihistaminicum nach unseren Versuchen die blutdrucksenkende Wirkung des

Trypsins nicht wesentlich abschwächt, kann sie nur zu einem geringen Teil durch freigelegtes Histamin verursacht sein (Abb. 1*). Nach Injektion von Trypsin in die Blutbahn wird nach Rocha e Silva[4] Bradykininogen, ein der α_2-Globulinfraktion angehörendes Protein des Blutplasmas, zum blutdrucksenkenden und darmkontrahierenden Bradykinin auf-

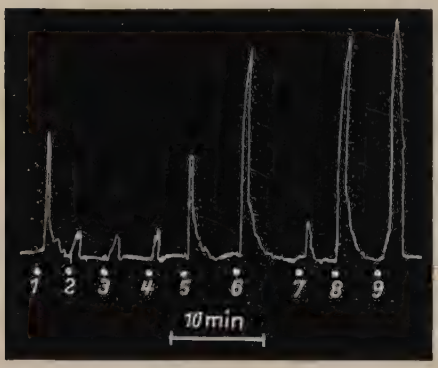


Abb. 2. Freilegung von Bradykinin aus normalem und 3 Std auf 57° C erhitztem Menschenserum durch kristallisiertes Trypsin. Isolierter Meerschweinchendarm, suspendiert in Tyrodelösung, atropinisiert, Badtemperatur 37° C. *1* 0,1 cm³ Kallidin-Standardlösung; *2* 0,1 cm³ Menschenserum normal, allein; *3* 0,1 cm³ Menschenserum, 3 Std 57° C allein; *4* 200 γ (= 0,02 cm³) krist. Trypsin allein; *5* 0,1 cm³: 1 cm³ Menschenserum normal + 1 mg Trypsin, nach 2 min; *6* 0,1 cm: 1 cm³ Menschenserum 3 Std 57° C + 1 mg Trypsin nach 2 min; *7* 0,1 cm³: Ansatz 5., nach 20 min; *8* 0,1 cm³: Ansatz 6., nach 20 min; *9* 0,2 cm³: Kallidin-Standardlösung.

gespalten. Auch im Reagenzglas entsteht aus Blutplasma oder -serum nach Versetzen mit Trypsin das blutdrucksenkende Bradykinin[4, 6]. Solche Serumproben wirken stark blutdrucksenkend. Nach unseren

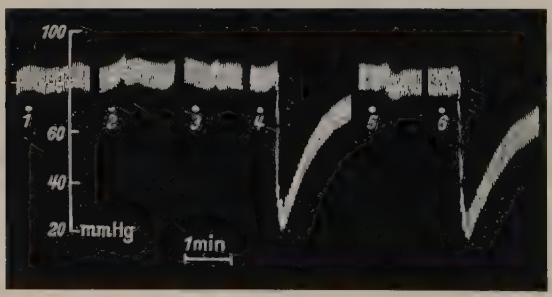


Abb. 3. Freilegung von KTS durch kristallisiertes Trypsin aus normalem und 3 Std auf 57° C erhitztem Menschenserum. Hund, männlich, 17 kg, 80 mm Hg, künstliche Atmung, Morphium-Pernocton-Narkose, Atropin; Registrierung wie Abb. 1. *1* 0,45 cm³ Menschenserum normal; *2* 0,45 cm³ Menschenserum 3 Std auf 57° C erhitzt; *3* 500 γ (= 0,05 cm³) krist. Trypsin; *4* 0,45 cm³: 1 cm³ Menschenserum normal + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *5* 0,45 cm³: 1 cm³ Menschenserum 3 Std 57° C + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *6* 0,45 cm³: Ansatz 4., nach 20 min.

Untersuchungen ist das Bradykininogen gegenüber Erhitzen auf 57° C beständig. Versetzt man 1 Std auf 57° C erhitztes Ratten- oder Menschenserum mit Trypsin, so entsteht eine unveränderte Menge von Bradykinin;

* Die im folgenden wiedergegebenen Kurven sind nicht durchweg hintereinander geschrieben, vielmehr wurden vielfach unwesentliche Stücke herausgeschnitten und die wesentlichen unmittelbar aneinandergefügt.

ja die Bradykininausbeute kann erhöht sein, weil bei dem Erhitzen die Bradykininase, eine Peptidase des Serums, die Bradykinin abbaut, zum größten Teil zerstört wird (Abb. 2). Die Blutdruckwirkung einer solchen Serumprobe ist aber nach Zusatz von Trypsin um mindestens eine Zehnerpotenz geringer als die von unerhitztem Serum (Abb. 3)*. Da ferner die blutdrucksenkende Wirkung einer mit Trypsin versetzten Probe von Menschenserum praktisch noch nicht abgenommen hat, wenn das freigewordene Bradykinin schon wieder durch Fermente der Serumprobe inaktiviert ist (Abb. 4), muß Trypsin neben dem Bradykinin noch eine weitere blutdrucksenkende Substanz aus dem Blutplasma oder -serum freilegen, deren inaktive Vorstufe im Gegensatz zum Bradykininogen bei 57° C thermolabil ist.

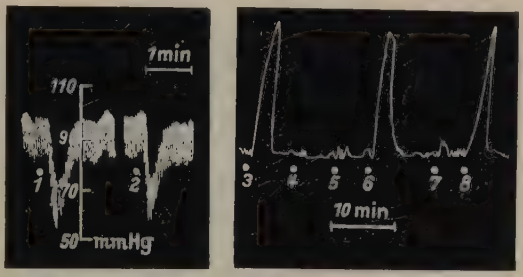


Abb. 4. Geschwindigkeit der Freilegung von KTS und Bradykinin aus Menschenserum durch kristallisiertes Trypsin, verfolgt am Blutdruck des Hundes und am isolierten Meerschweinchendarm. Hund, männlich, 12 kg, 90 mm Hg, Morphium-Pernocton-Narkose; Registrierung wie Abb. 1, isolierter Meerschweinchendickdarm, Bad wie Abb. 2. *1* 0,1 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg Trypsin, nach 2 min; *2* 0,1 cm³: Ansatz 1., nach 15 min; *3* 0,15 cm³ Kallidin-Standardlösung; *4* 0,2 cm³ Menschenserum allein; *5* 200 γ (= 0,02 cm³) krist. Trypsin allein; *6* 0,2 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg Trypsin, nach 2 min; *7* 0,2 cm³: Ansatz 6., nach 15 min; *8* 0,15 cm³ Kallidin-Standardlösung.

2. Die Spaltung von Kallikreinogen durch kristallisiertes Trypsin.

Die zweite blutdrucksenkende Substanz, die neben dem Bradykinin aus Serum durch kristallisiertes Trypsin entwickelt wird, ist nach unseren Feststellungen[5] im Gegensatz zu Bradykinin thermolabil, hochmolekular und am isolierten Meerschweinchendarm unwirksam (Abb. 4). Durch 3 min langes Aufkochen ihrer Lösungen wird die Blutdruckwirkung der Substanz vollkommen aufgehoben, die des Bradykinins bleibt erhalten. Bei 24stündiger Dialyse bei 0° C in Cellophanbeuteln gegen stehendes Wasser vermag diese zweite Substanz die Membran nicht zu durchdringen. Sie wird inaktiviert durch Blutserum, durch den Kallikrein-Inaktivator aus Kartoffeln[8] und aus Ohrspeicheldrüsen[2] und ihre Wirkung wird durch Atropinisieren oder Vorbehandeln der Versuchstiere mit einer Antihistaminsubstanz nicht wesentlich abgeschwächt (Abb. 5–7). Die

* *Anmerkung*: Auf den Bildüberschriften bedeutet die Abkürzung: KTS *K*allikrein durch *T*rypsin aus *S*erum freigelegt; KDyS = *K*allikrein durch Proteinase aus Reisschimmel (= *Dy*mal) aus *S*erum freigelegt.

Substanz hat also eine Reihe von Eigenschaften mit Kallikrein gemeinsam. Die hochmolekulare Vorstufe dieses „Serumkallikreins", die als „Serum-Kallikreinogen" zu bezeichnen ist, findet sich in größter Konzentration im menschlichen Blut, im Blut von Ratten und Schweinen,

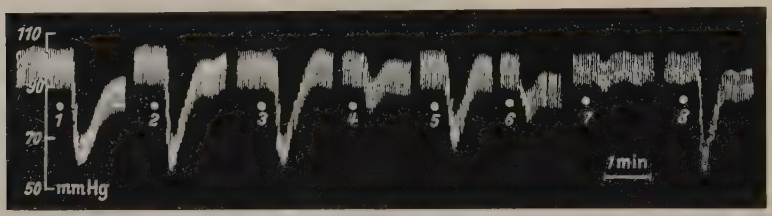


Abb. 5. Wirkung von Histamin und KTS nach Vorbehandlung des Versuchstieres mit Antistin. Hund, männlich, 11 kg, 100 mm Hg; sonst wie Abb. 3. *1* 15 γ (= 0,15 cm³) Histamin; *2* 0,15 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg Trypsin, nach 10 min; *3* 50 mg (= 1,0 cm³) Antistin; *4* 15 γ (= 0,15 cm³) Histamin, 10 min nach Antistin; *5* 0,15 cm³: Ansatz 2. nach 10 min, 15 min nach Antistin; *6* 15 γ (= 0,15 cm³) Histamin, 35 min nach Antistin; *7* 0,15 cm³: Menschenserum allein; *8* 0,15 cm³: Ansatz 2., nach 10 min, 40 min nach Antistin.

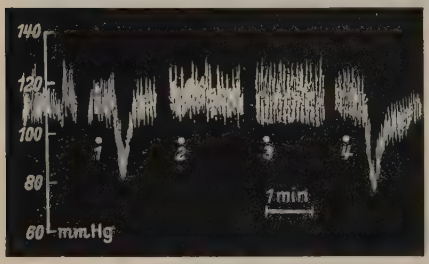


Abb. 6.

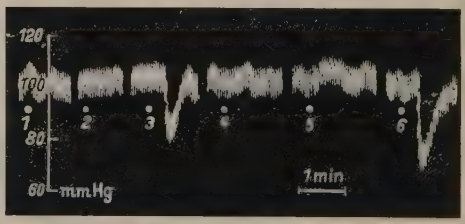


Abb. 7.

Abb. 6. Inaktivierung von KTS durch Menschen- und Hundeserum. Hund, männlich, 10 kg, 115 mm Hg, Narkose und Registrierung wie vorher. *1* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *2* 0,9 cm³: 1 cm³ Ansatz 1. + 2 cm³ Menschenserum, nach 15 min; *3* 0,9 cm³: 1 cm³ Ansatz 1. + 2 cm³ Hundeserum, nach 15 min; *4* 0,3 cm³: Ansatz 1., nach 25 min.

Abb. 7. Inaktivierung von KTS aus Menschenserum durch Ohrspeicheldrüsen- und Kartoffel-Inaktivator. Hund, männlich, 11 kg, 100 mm Hg, Methodik wie Abb. 3. *1* 0,5 cm³ Menschenserum rallein; *2* 500 γ (= 0,05 cm³) krist. Trypsin allein; *3* 0,15 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Typsin, nach 10 min; *4* 0,6 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min + 400 IE (= 0,2 cm³) Ohrspeicheldrüsen-Inaktivator, nach 10 min; *5* 1,5 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min + 100 IE (= 4,0 cm³) Kartoffel-Inaktivator, nach 10 min; *6* 0,2 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 20 min.

in abnehmender Konzentration in Rinder-, Katzen- und Hundeblut (Abb. 8); in Meerschweinchenblut fehlt sie oder ist nur in sehr geringer Konzentration vorhanden. Das Serum-Kallikreinogen findet sich in der Globulinfraktion des Serums (Abb. 9), kann also durch Ammonsulfathalbsättigung ausgefällt werden. Das Verhältnis von Kallikreinogen- zu Bradykininogen-Konzentration ist bei den Seren der einzelnen Tierarten wechselnd; bei Hunde- und Meerschweinchenserum ist es zugunsten des Bradykininogens, bei Ratten- und Schweineserum ist es wie bei Menschenserum zugunsten des Kallikreinogens verschoben.

Nach diesen Feststellungen ist also die blutdrucksenkende Wirkung, z. B. von Menschen- und Rattenserum nach Zusatz von Trypsin und bei Verwendung des Hundes als Versuchstier zum weitaus größten Teil auf Serum-Kallikrein und nicht auf Bradykinin zurückzuführen. Es ist deshalb auch die Stärke der Blutdrucksenkung, die nach i. v. Injektion von Trypsin auftritt, in Abhängigkeit von der

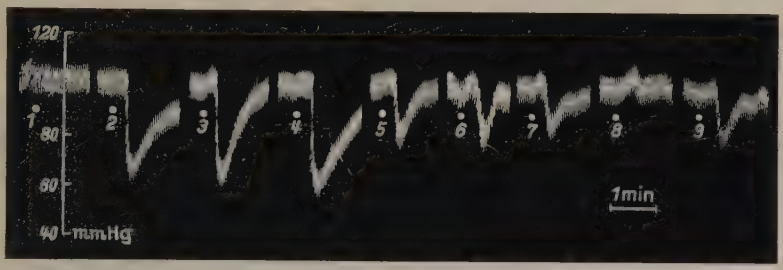


Abb. 8. Freilegung von KTS durch kristallisiertes Trypsin aus verschiedenen Seren. Hund, männlich, 11 kg, 100 mm Hg, Methodik wie 3 und 7. *1* 1 mg (= 0,1 cm³) krist. Trypsin allein; *2* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *3* 0,3 cm³: 1 cm³ Rattenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *4* 0,3 cm³: 1 cm³ Schweineserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *5* 0,6 cm³: 1 cm³ Rinderserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *6* 1,0 cm³: 1 cm³ Katzenserum 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *7* 1,0 cm³: 1 cm³ Hundeserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *8* 1,0 cm³: 1 cm³ Meerschweinchenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *9* 0,3 K.E. Standard (= 0,3 cm³).

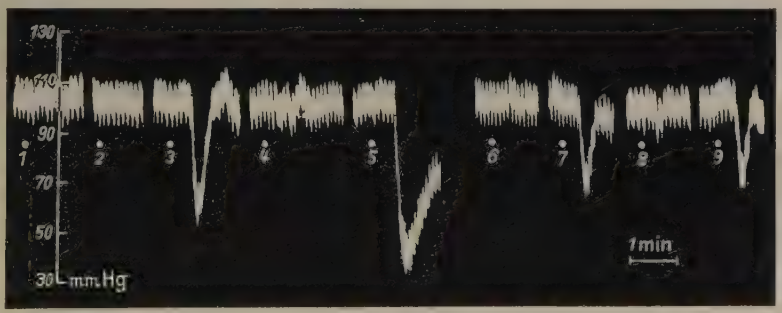


Abb. 9. Freilegung von KTS aus Schweine- und Rinderserum-Globulin. Hund, männlich, 12 kg, 100 mm Hg, Methodik wie Abb. 6. *1* 1 mg (= 0,1 cm³) krist. Trypsin allein; *2* 0,5 cm³ Schweineserum-Globulin allein; *3* 0,3 cm³: 1 cm³ Schweineserum + 1 mg Trypsin, nach 20 min; *4* 0,6 cm³: 1 cm³ Schweineserum-Albumin (entspricht 1 cm³ Serum) + 1 mg Trypsin, nach 20 min; *5* 0,6 cm³: 1 cm³ Schweineserum-Globulin (entspricht 1 cm³ Serum) + 1 mg Trypsin, nach 20 min; *6* 0,5 cm³ Rinderserum-Globulin allein; *7* 0,5 cm³: 1 cm³ Rinderserum + 1 mg Trypsin, nach 20 min; *8* 0,5 cm³: 1 cm³ Rinderserum-Albumin (entspricht 1 cm³ Serum) + 1 mg Trypsin, nach 20 min; *9* 0,5 cm³: 1 cm³ Rinderserum-Globulin (entspricht 1 cm³ Serum) + 1 mg Trypsin, nach 20 min.

Kallikreinogenkonzentration im Blut der gewählten Versuchstiere durch freigewordenes Serum-Kallikrein mehr oder weniger stark mitbestimmt. Wie das Kallikrein aus Harn, so verursacht auch das Serum-Kallikrein eine länger anhaltende periphere Gefäßerweiterung (Abb. 10). Sie wird nicht beobachtet nach i.v. Injektionen von Bradykinin oder Kallidin (Abb. 11) in Mengen, welche den Carotisblutdruck etwa ebenso stark

herabsetzen, wie solche von Harn- oder Pankreaskallikrein. Da die periphere Gefäßerweiterung auch nach Injektion von Trypsin auftritt, kann geschlossen werden, daß sie durch Serumkallikrein verursacht ist, das durch Trypsin in der Blutbahn freigesetzt wird.

Wenn es richtig ist, daß Serum-Kallikrein durch Trypsin freigelegt wird, so dürfte es nach vorangehendem Zusatz von Trypsinhemmkörpern zu Serum, wie Sojabohnen-Inhibitor oder Ovomucoid, nicht auftreten. Dies ist in der Tat der Fall (Abb. 12). Wie erwähnt, ist die Freilegung des Serum-Kallikreins ein proteolytischer Vorgang. Er ist für Trypsin

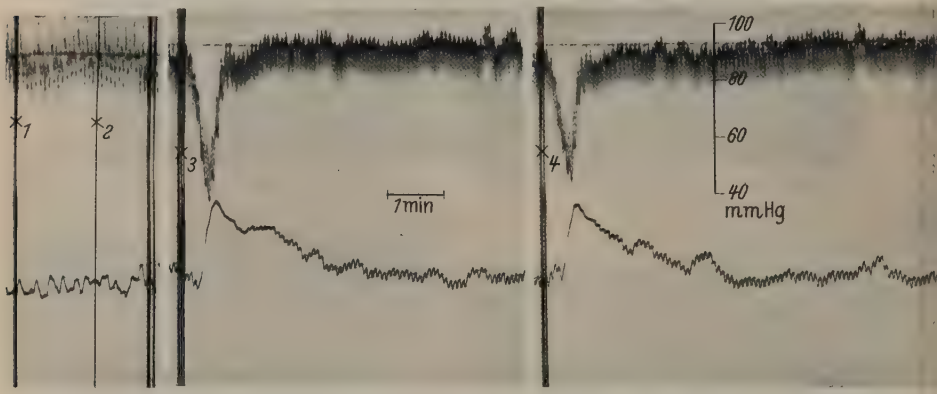


Abb. 10. Wirkung von KTS und Harnkallikrein auf den Blutdruck und die Durchblutungsgröße der Vena femoralis des narkotisierten Hundes. Hund, männlich, 13 kg, 85 mm Hg, Morphium-Pernocton-Narkose, Reinsche Thermostromuhr; obere Kurve: re. A. carotis/Blutdruck, untere Kurve: re. V. femoralis/Durchblutung. *1* 0,3 cm³ Menschenserum allein; *2* 300 γ (= 0,03 cm³) krist. Trypsin allein; *3* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg Trypsin, nach 15 min; *4* 0,3 K.E. Standard (= 0,3 cm³).

nicht spezifisch und kann z. B. auch durch eine Proteinase aus Reisschimmel bewirkt werden (Abb. 13). Trypsin und Reisschimmel-Proteinase dürften am Menschen eine wesentlich stärkere Blutdrucksenkung ausüben als am Hund, weil die Konzentration an Serum-Kallikreinogen im Blutplasma des Menschen sehr viel höher ist als in dem des Hundes. Verhältnismäßig hoch ist die Konzentration des Kallikreinogens im Serum der Ratte, bei der denn auch das Trypsin stark blutdrucksenkend wirkt. Pepsin greift Serum-Kallikreinogen anscheinend nicht an. Es wird lediglich durch die saure Reaktion, die Voraussetzung für das Wirksamwerden des Pepsins ist, zerstört. Chymotrypsin, verschiedene Schlangengifte oder Bienengift vermögen die Kallikrein-Freilegung nicht herbeizuführen.

Das freigelegte Serum-Kallikrein kann durch Kallikrein-Inaktivatoren und durch Sojabohnen-Inhibitor, nicht aber durch Ovomucoid inaktiviert werden. Es unterscheidet sich daher das Serum-Kallikrein von dem Kallikrein aus Pankreas, Harn und Submaxillarisdrüsen

(Abb. 14), das gegenüber Sojabohnen-Inhibitor unempfindlich ist, und ähnelt dem Kallikrein, welches durch Behandeln mit Aceton und Äther, z. B. aus Menschen- oder Schweineblutserum freigelegt werden kann[9].

Es war von Interesse zu untersuchen, ob die Blutdrucksenkung, die nach Trypsininjektion oder nach Injektion von aktivem Serumkallikrein erfolgt, beeinflußt wird durch vorherige i.v. Gaben von Kallikrein- und Trypsin-Inaktivatoren. Eine starke Abschwächung der Wirkung einer Serum-Kallikrein- oder Trypsininjektion bewirkte der kristallisierte Sojabohnen-Inhibitor. Beim Hund genügten bereits 2—5 mg Sojabohnen-Inhibitor, um eine nachfolgende Serum-Kallikrein- oder Trypsinwirkung völlig aufzuheben. Demnach ist die Affinität des Trypsins zum Sojabohnen-Inhibitor sehr viel größer als zum Serum-Kallikreinogen, das im Hundeplasma allerdings nur in geringer Menge vorhanden ist, so daß dessen Aufspaltung zu aktivem Kallikrein verhindert wird. Kartoffel-Inaktivator verursachte ebenfalls eine, wenn auch wesentlich geringere Abschwächung der Wirkung des Trypsins und Serum-Kallikreins (Abb. 15 bis 18). Ohrspeicheldrüsen-Inaktivator (1000 IE) und Ovomucoid (8,5 mg) waren praktisch ohne Einfluß.

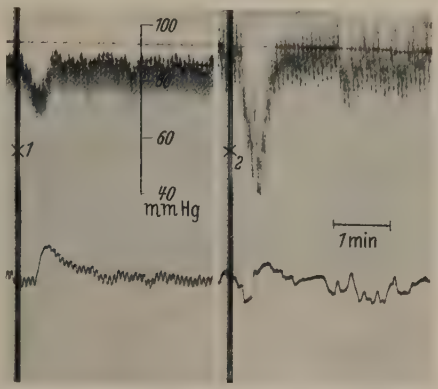


Abb. 11. Wirkung von kristallisiertem Trypsin und von Kallidin auf den Blutdruck und die Durchblutungsgröße der Vena femoralis des narkotisierten Hundes. Hund, männlich, 13 kg, 80 mm Hg, Methodik wie Abb. 10. Obere Kurve: re. A. carotis/Blutdruck; untere Kurve: re. V. femoralis/Durchblutung. *1* 3 mg (= 0,3 cm³) kristallisiertes Trypsin; *2* 0,4 cm³ Kallidinlösung.

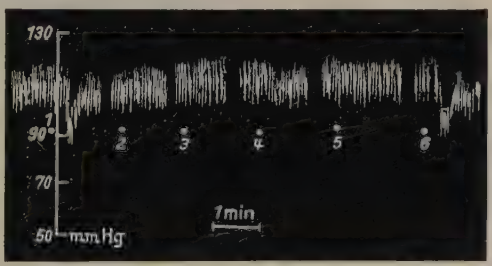


Abb. 12. Verhinderung der Spaltung von Kallikreinogen durch kristallisiertes Trypsin nach vorheriger Zugabe von kristallisiertem Ovomucoid, kristallisiertem Sojabohnen-Inhibitor, Ohrspeicheldrüsen und Kartoffel-Inaktivator zu Menschenserum. Hund, weiblich, 11,5 kg, 110 mm Hg, Methodik wie Abb. 6. *1* 0,2 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 35 min; *2* 0,2 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Ovomucoid, nach 10 min + 1 mg krist. Trypsin, nach 20 min; *3* 0,2 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Sojabohnen-Inhibitor, nach 10 min + 1 mg krist. Trypsin, nach 20 min; *4* 0,6 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 2,0 cm³ (= 2000 IE) Ohrspeicheldrüsen-Inaktivator, nach 10 min + 1 mg krist. Trypsin, nach 20 min; *5* 0,4 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1,0 cm³ (=12 IE) Kartoffel-Inaktivator, nach 10 min + 1 mg krist. Trypsin, nach 20 min; *6* 0,2 cm³: Ansatz 1., nach 60 min.

3. Beständigkeit des Kallikreinogens im Serum.

Beim Aufbewahren des Serums bei Zimmertemperatur verschwindet das Kallikreinogen innerhalb weniger Tage; dabei könnte es durch die serumeigenen Proteinasen zu Kallikrein aufgespalten werden, welches so

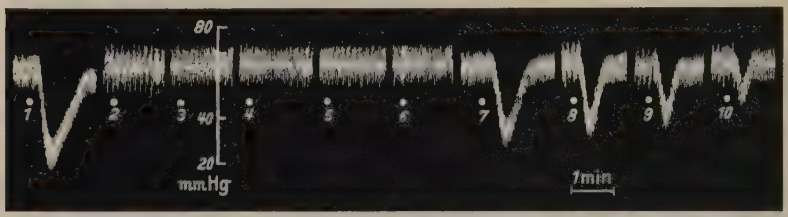


Abb. 13. Freilegung von Kallikrein aus Menschenserum durch Reisschimmelproteinase durch verschiedene Mengen „Dymal". Hund, männlich, 12,5 kg, 60 mm Hg, Methodik wie Abb. 3. *1* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *2* 0,3 cm³ Menschenserum allein; *3* 250 γ (= 0,025 cm³) Dymal allein; *4* 500 γ (= 0,05 cm³) Dymal allein; *5* 1 mg (= 0,1 cm³) Dymal allein; *6* 2 mg (= 0,2 cm³) Dymal allein; *7* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 250 γ Dymal, nach 10 min; *8* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 500 γ Dymal, nach 10 min; *9* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg Dymal, nach 10 min; *10* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 2 mg Dymal, nach 10 min.

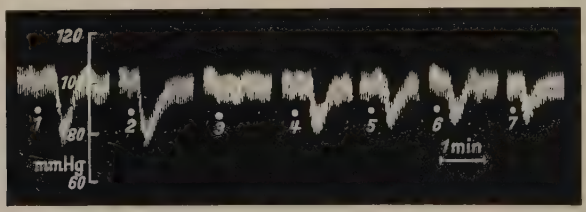


Abb. 14. Verhalten der blutdrucksenkenden Wirkung von KTS und Kallikrein aus Harn und Pankreas bei Vorinkubation mit kristallisiertem Sojabohnen-Inhibitor im Reagensglas. Hund, männlich, 11 kg, 100 mm Hg, Methode wie Abb. 3 und 13. *1* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *2* 0,5 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min + 2 mg (= 0,2 cm³) krist. Ovomucoid, nach 15 min; *3* 0,5 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min + 2 mg (= 0,2 cm³) krist. Sojabohnen-Inhibitor, nach 15 min; *4* 0,5 cm³: 1 K.E. Pankreas (= 1,0 cm³) + 2 mg (= 0,2 cm³) krist. Sojabohnen-Inhibitor, nach 15 min; *5* 0,5 K.E. Pankreas (= 0,5 cm³) allein; *6* 0,5 cm³: 1 K.E. Harn (= 1,0 cm³) + 2 mg (= 0,2 cm³) krist. Sojabohnen-Inhibitor, nach 10 min; *7* 0,5 K.E. Harn (= 0,5 cm³) allein.

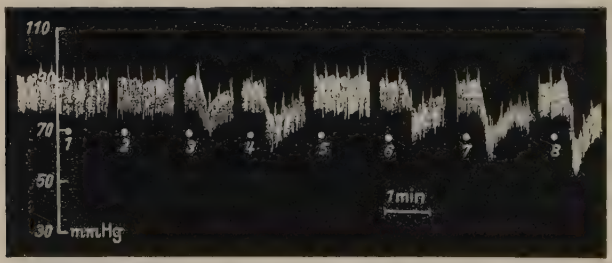


Abb. 15. Einfluß von Ohrspeicheldrüsen-Inaktivator auf die blutdrucksenkende Wirkung von kristallisiertem Trypsin und von KTS. Hund, männlich, 17 kg, 85 mm Hg, Atropin, Morphium-Pernocton-Narkose; Registrierung wie vorher. *1* 0,3 cm³ Menschenserum allein; *2* 1 mg (= 0,1 cm³) krist. Trypsin; *3* 3 mg (= 0,3 cm³) krist. Trypsin; *4* 0,2 cm³: 1,0 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 10 min; *5* 10 cm³ Ohrspeicheldrüsen-Inaktivator (= 1000 IE); *6* 3 mg (= 0,3 cm³) krist. Trypsin, 90 sec nach Ohrspeicheldrüsen-Inaktivator; *7* 0,2 cm³: Ansatz 4., 6 min nach Ohrspeicheldrüsen-Inaktivator; *8* 0,35 K.E. Standard (= 0,35 cm³).

schnell wie es entsteht, inaktiviert wird. Das Kallikreinogen könnte auch in unspezifischer Weise gespalten werden. Bei —20° C aufbewahrt, bleibt das Kallikreinogen des Serums wochenlang praktisch unverändert erhalten. Das freigelegte Serum-Kallikrein verschwindet in Gegenwart von

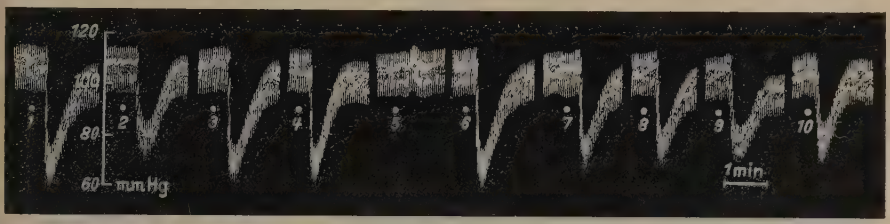


Abb. 16. Wirkung von i.v. gegebenem kristallisiertem Ovomucoid auf KTS, Histamin, Trypsin und Kallikrein. Hund, männlich, 11 kg, 105 mm Hg, Methodik wie Abb. 3. *1* 0,15 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg Trypsin, nach 25 min; *2* 15 γ (= 0,15 cm³) Histamin; *3* 0,5 K.E. Standard (= 0,5 cm³); *4* 3 mg (= 0,3 cm³) krist. Trypsin; *5* 8,5 mg (= 0,85 cm³) krist. Ovomucoid; *6* 3 mg (= 0,3 cm³) krist. Trypsin, 90 sec nach Ovomucoid; *7* 0,15 cm³: Ansatz 1., nach 40 min, 3½ min nach Ovomucoid; *8* 0,5 K.E. Standard (= 0,5 cm³), 6 min nach Ovomucoid; *9* 15 γ (= 0,15 cm³) Histamin, 8 min nach Ovomucoid; *10* 0,15 cm³: Ansatz 1., nach 45 min, 10 min nach Ovomucoid.

Abb. 17. Beeinflussung der Blutdrucksenkung von KTS, Trypsin und Kallikrein durch Kartoffel-Inaktivatorgaben. Hund, männlich, 11 kg, 120 mm Hg, Methodik wie Abb. 3. *1* 0,3 K.E. Standard (= 0,3 cm³); *2* 0,3 K.E. Pankreas (= 0,3 cm³); *3* 2 mg (= 0,2 cm³) krist. Trypsin; *4* 0,3 cm³ Menschenserum; *5* 0,1 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 25 min; *6* 8,0 cm³ (= 250 IE) Kartoffel-Inaktivator; *7* 2 mg (= 0,2 cm³) krist. Trypsin, 2 min nach Kartoffel-Inaktivator; *8* 0,1 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 25 min; 4 min nach Kartoffel-Inaktivator; *9* 0,3 K.E. (= 0,3 cm³) Standard, 6 min nach Kartoffel-Inaktivator; *10* 0,3 K.E. (= 0,3 cm³) Pankreas, 8 min nach Kartoffel-Inaktivator; *11* 0,1 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 25 min; 14 min nach Kartoffel-Inaktivator; *12* 0,1 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 25 min; 40 min nach Kartoffel-Inaktivator.

Trypsin in der Serumprobe bei Zimmertemperatur innerhalb von 24 Std vollständig; bei 0° C erfolgt die Inaktivierung des Serum-Kallikreins wesentlich langsamer. Bei —20° C ist das freigelegte Serum-Kallikrein wochenlang beständig.

4. Zur quantitativen Bestimmung von Serum-Kallikrein mit Hilfe von Trypsin.

Die Wirkung fast aller Proteinasen einschließlich der des Trypsins wird durch Blutserum gehemmt. Durch 1 cm³ menschliches Serum wird die proteolytische Aktivität von 200 γ Trypsin, bestimmt nach Anson, praktisch völlig aufgehoben[10]. Es muß also, damit die Freilegung von

Kallikrein mit einer günstigen Geschwindigkeit verläuft, ein Überschuß an Trypsin angewandt werden. Wird dieser Überschuß zu groß gewählt, so wird die Wirkung des in der Serumprobe freigelegten Kallikreins vermehrt durch die blutdrucksenkende Wirkung, die größere Trypsinmengen allein am Blutdruck des Hundes verursachen (Abb. 19). Wenn man etwa 1 mg Trypsin pro 1 cm³ Serum verwendet, so macht sich dieser Einfluß des Trypsins praktisch noch nicht störend bemerkbar, weshalb wir stets 1 mg kristallisiertes Trypsin zu 1 cm³ Serum geben. Die Kallikreinfreilegung ist bei Zimmertemperatur praktisch schon nach 2 min vollständig. Die quantitative Bestimmung des Kallikreins wird an Hand einer Harnkallikrein-Standardlösung innerhalb der ersten Stunde nach der Freilegung vorgenommen, in dieser Zeitspanne ist die erwähnte Kallikrein-

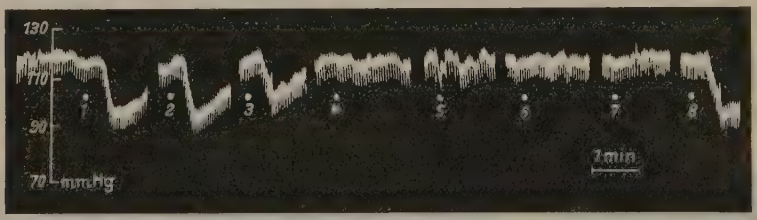


Abb. 18. Inaktivierung von KTS und KDyS durch kristallisierten Sojabohnen-Inhibitor. Hund, weiblich, 9 kg, 115 mm Hg, Methodik wie bei Abb. 6. *1* 0,3 K.E. Standard (= 0,3 cm³); *2* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 25 min; *3* 0,3 cm³: 1 cm³ Menschenserum + 1 mg „Dymal", nach 25 min; *4* 0,3 cm³: 1 cm³ Ansatz 2., nach 25 min + 2 mg Sojabohnen-Inhibitor, nach 5 min; *5* 0,3 cm³: Ansatz 2., 10 min nach Sojabohnen-Inhibitor; *6* 0,5 cm³: Ansatz 2., 30 min nach Sojabohnen-Inhibitor; *7* 0,5 cm³: Ansatz 3., 40 min nach Sojabohnen-Inhibitor; *8* 0,3 K.E. Standard (= 0,3 cm³).

abnahme noch nicht merklich. Kann die Bestimmung erst zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen, so müssen die Ansätze bei —20° C aufbewahrt werden.

An Hand dieser Methode wurde Kallikreinogen auch in Lymphe, Pleuraexsudat und Ascites festgestellt. Die bei Serumproben des Menschen und verschiedener Tiere gefundenen Kallikreinogenmengen, ausgedrückt in Kallikrein-Einheiten, sind in Tab. 1 verzeichnet, aus der zu ersehen ist, daß der Kallikreinogengehalt des Serums von Patienten mit Lebererkrankungen stark erniedrigt sein kann. Über den Kallikreinogengehalt des Blutes bei sonstigen Krankheiten werden wir andernorts berichten.

5. Vergleich der Kallikreinausbeuten aus Blutserum nach Anwendung verschiedener Freilegungsverfahren.

Vergleicht man die Kallikreinausbeuten die die Trypsinmethode liefert mit denjenigen, die sich bei Verwendung der Aceton-Äther-Methode ergeben, so findet man z. B. beim Menschenserum eine gewisse Übereinstimmung der Werte, in anderen Fällen aber, wie beim Rinder- und Rattenserum, fehlt sie vollkommen. Daraus ergeben sich folgende Möglichkeiten: Es könnte sein, daß bei beiden Verfahren verschiedene Kallikreinogene zerlegt werden, wobei verschiedene Serum-Kallikreine

entstehen oder aber die freigelegten Kallikreine sind identisch und die Kallikreinogenmoleküle des Rinder- und Menschenserums unterscheiden sich nur in bezug auf den Teil, der bei der Freilegung vom Kallikrein abgespalten wird. Im Verhalten dieser Blut-Kallikreine gegenüber Inaktivatoren ergaben sich bisher keine Unterschiede.

6. Zur Frage des Bildungsortes des Serum-Kallikreinogens.

Nach heutiger Kenntnis kommt für die Bildung der Plasmaeiweiße in erster Linie die Leber in Betracht. Wir haben daher bei der Suche nach dem Bildungsort des Serum-Kallikreinogens zunächst die Leber, dann aber weitere Organe, wie Knochenmark, Milz, Niere, Lunge, Darm, Pankreas und Gehirn in Betracht gezogen. Eine Kallikreinogenmenge, die beträchtlich höher liegt als dem Blutgehalt des Organs entspricht, fand sich nur beim Pankreas. Es wurde von uns schon früher festgestellt, daß das inaktive Kallikrein des Pankreas durch Trypsin freigelegt werden kann[11].

Abb. 19. Freilegung von KTS aus Hundeserum durch verschiedene Trypsinmengen. Hund, weiblich, 8 kg, 55 mm Hg, Methodik wie Abb. 3. *1* 500 γ (= 0,05 cm³) krist. Trypsin; *2* 1 mg (= 0,1 cm³) krist. Trypsin; *3* 2 mg (= 0,2 cm³) krist. Trypsin; *4* 1,0 cm³: 1,0 cm³ Hundeserum + 500 γ krist. Trypsin, nach 14 min; *5* 1,0 cm³: 1,0 cm³ Hundeserum + 1 mg krist. Trypsin, nach 15 min; *6* 1,0 cm³: 1,0 cm³ Hundeserum + 2 mg krist. Trypsin, nach 15 min.

Tabelle 1. *Kallikreingehalt verschiedener Seren und Körperflüssigkeiten. Vergleich der Kallikreinausbeuten nach verschiedenen Freilegungsverfahren.*

	7+2* KE/1 cm³	KTS KE/1cm³	AÄBic** KE/1 cm³
Mensch Serum	1,6	4,0	2,7
„ Pleuraexsudat	—	1,6	—
„ Ascites	—	1,9	—
„ Serum, Hepatitis	—	2,5	—
„ Serum, Leber-Ca.	—	2,3	—
Schwein Serum	0,8	2,0	2,0
Ratte „	3,4	6,5	0,2
Rind „	0,0	0,6	0,1
Hund „	—	0,3	0,0
„ Lymphe	—	0,1	—
Katze Serum	—	0,3	—

* 7 + 2 bedeutet: Freilegung von Kallikrein aus Serum durch Versetzen von 7 cm³ Serum mit 2 cm³ Aceton[2].

** AÄBic bedeutet: Freilegung von Kallikrein aus Serum durch Trocknen mit Aceton-Äther und Aufnehmen des Trockenpulvers in n/50 Bicarbonatlösung[2].

Zusammenfassung.

Kristallisiertes Trypsin legt aus Blutserum auf Grund seiner proteolytischen Wirkung außer dem Bradykinin noch eine weitere blutdrucksenkende Substanz frei. Nach ihren chemischen Eigenschaften, ihren pharmakologischen Wirkungen und ihrem Verhalten gegenüber Inaktivatoren des Kallikreins und des Trypsins ist die Substanz identisch mit Kallikrein, wie es mit Hilfe früher beschriebener Verfahren aus Blutserum gewonnen werden kann. Ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Serum-Kallikreinogens wird angegeben. Das Vorkommen des Kallikreinogens im Blutserum des Menschen und verschiedener Tiere sowie in Organen wurde untersucht. Nur im Pankreas wurde das Kallikreinogen in größeren Mengen angetroffen.

Literatur.

[1] Dragstedt, C. A., M. R. de Arellano and H. H. Lawton: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **43**, 360 (1940). — J. of Immun. **39**, 537 (1940). — Science (New York) **91**, 617 (1940). — Rocha e Silva, M., and C. A. Dragstedt: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **72**, 36 (1941). — Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **47**, 420 (1941). — Urbach, K.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **70**, 146 (1949); **71**, 626 (1949). — Rocha e Silva, M.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **130**, 186 (1939). — [2] Kraut, H., E. K. Frey u. E. Werle: Z. physiol. Chem. **192**, 1 (1930). — [3] Rocha e Silva, M.: Folia clinica et biologica **11**, 70 (1939). — [4] Rocha e Silva, M., W. T. Beraldo and G. Rosenfeld: Amer. J. Physiol. **156**, 261 (1949). — [5] Werle, E., M. M. Forell u. L. Maier: Naturwissenschaften **40**, 627 (1953). — [6] Werle, E., R. Kehl u. K. Koebke: Biochem. Z. **320**, 372 (1950). — [7] Werle, E., R. Kehl u. K. Koebke: Biochem. Z. **321**, 213 (1950). — [8] Werle, E., L. Maier u. F. Löffler: Biochem. Z. **321**, 372 (1951). — Werle, E., u. L. Maier: Biochem. Z. **322**, 414 (1952). — [9] Werle, E., u. L. Maier: Biochem. Z. **323**, 279 (1952). — [10] Werle, E., L. Maier u. E. Ringelmann: Naturwissenschaften **39**, 328 (1952). — [11] Werle, E., u. K. Urhahn: Biochem. Z. **304**, 387 (1940).

Prof. Dr. Dr. E. Werle, München, Laboratorium der Chirurg. Univ.-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 381—401 (1955).

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. med. et phil. nat. et med. h. c. A. Dabelow).

Über die Morphokinese und das Strukturbild der Rattenschilddrüse nach Gaben von N-(3'-Dimethylamino)-propyl-3-chlorphenothiazin (Megaphen Bayer) unter verschiedenen experimentellen Bedingungen.

Von

Klaus Werner Schaumkell.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Dezember 1954.)

Einleitung.

Die Anwendung der Phenothiazinderivate erhält in der ärztlichen Praxis eine zunehmende Bedeutung. Dabei stellt man sich den Wirkungsmechanismus in einer Weise vor, wie er von den Inauguratoren der „Hibernation arteficielle", besonders Laborit (1951a, 1952a, b, c, d, e, f) und Hugenard (1951a) dargestellt wurde. Eine große Anzahl von Autoren glaubte auf Grund gewisser Ähnlichkeiten im äußeren Erscheinungsbild an einen Winterschlaf oder winterschlafähnlichen Zustand der *gesteuert herabgesetzten, regulierten Reagibilität*, ohne jedoch den exakten Beweis erbracht oder die These der französischen Schule einer strengen Kritik unterzogen zu haben. Aufgabe dieser Untersuchungen soll es sein, den Wirkungsmechanismus des Megaphen experimentell zu klären und die Unterschiede oder Gemeinsamkeiten zwischen dem natürlichen Winterschlaf und der Megaphenwirkung zu finden.

Material und Methodik.

38 männliche Albinoratten im Gewicht von 185—220 g wurden in 6 Gruppen eingeteilt.

Gruppe 1: 5 unbehandelte Kontrollen. 3 Tiere dieser Gruppe wurden bei einer Raumtemperatur von 4° C gehalten.

Gruppe 2: 8 Tiere erhielten 5stündlich 2,5 mg Megaphen[1] intraperiotenal. Die Substanz stand in Ampullen zu 50 mg in 2,5%iger Lösung in Form des Hydrochlorids zur Verfügung. 4 Tiere dieser Gruppe wurden teils durch Berieselung mit Wasser von 15° C, teils durch Auflegen kleiner Eisstückchen zusätzlich unterkühlt.

Gruppe 3: 6 Tiere erhielten 12stündlich Thyroxin (Deutsche Hoffmann La Roche AG) in Dosen von 50—500 γ.

[1] Das Megaphen wurde von den Farbenfabriken Bayer, das Pretiron von der Schering AG dankenswerterweise zur Verfügung gestellt.

Gruppe 4: 3 Tiere erhielten 12stündlich 2,5 E Thyreotropes Hormon (Pretiron Schering[1]) auf 100 g Körpergewicht.

Gruppe 5: 8 Tiere erhielten Megaphan und Thyreotropes Hormon in obiger Dosierung, 4 Tiere dieser Gruppe wurden zusätzlich unterkühlt, je 2 unterkühlte und nicht unterkühlte Tiere dieser Gruppe wurden mit weiteren 3 E Thyreotropin behandelt.

Gruppe 6: 8 Tiere erhielten Megaphen und Thyroxin in obiger Dosierung, 4 Tiere dieser Gruppe wurden zusätzlich (siehe oben) unterkühlt.

Sämtliche Versuchstiere und Kontrollen wurden mit Ausnahme der unterkühlten Tiere bei einer Raumtemperatur von 18° C gehalten, die Kerntemperatur wurde mit einem feinen Fadenabrißthermometer rectal bei einer Tiefe von 5 cm gemessen. Die Versuchsdauer erstreckte sich von 36—60 Std. Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet, die Organe frisch fixiert, das hier beschriebene Material in Susa nach Heidenhain. Nach Jodierung und Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe erfolgte Einbettung über Methylbenzoat in Paraffin. Schnittdicke 6 μ. Färbung: Hämalaun-Eosin. Mikrophotogramme: Platte P 13, Objekt. 6 L. Periplanocular 6mal, Auszug 32, 420:1. Objekt. 1/12 Öl, Periplanocular 6mal, Auszug 32, 935:1.

Äußerer Versuchsverlauf. Die bei normaler Raumtemperatur gehaltenen Kontrollen verhielten sich unauffällig. Die bei tiefer Raumtemperatur gehaltenen Kontrollen verhielten sich, wie es für homoiotherme Tiere bei tiefer Temperatur charakteristisch ist. Die Tiere der Gruppe 2 verloren wie alle mit Megaphen behandelten Tiere der Gruppen 5 und 6 kurz nach der 1. Injektion an Tonus und wurden somnolent. Teils behielten sie diesen Zustand über den Verlauf des ganzen Versuches bei, teils ging die Somnolenz besonders der Tiere unter 210 g Körpergewicht in eine Bewußtlosigkeit über, die weder durch Thyreotropin- noch durch Thyroxingaben zu beeinflussen war. Eine Futteraufnahme der Megaphentiere fand über die Dauer des Versuches nicht statt. Die Tiere der Gruppen 3 und 4 dagegen nahmen reichlich Futter in Form des angebotenen Fischmehl und Haferkorn auf. Der Konsum war größer als bei den Kontrollen. Die Urinsekretion wurde nicht gemessen, aber bei grober Prüfung fiel eine signifikante Vermehrung der Harnmenge sämtlicher mit Megaphen behandelter Tiere auf. Die Urinproduktion der Kontrollen war unauffällig, die der nur mit Thyreotropin und Thyroxin behandelten Tiere leicht vermehrt.

Gewichtsverläufe. Die Kontrollen behielten ihre Anfangsgewichte bei. Die Gewichte sämtlicher mit Megaphen behandelter Tiere nahm deutlich ab. Dabei war es gleichgültig, ob gleichzeitig noch Thyreotropin oder Thyroxin verabreicht wurde. Tiere, die über 60 Std im Versuch waren, zeigten bei zusätzlicher Unterkühlung eine Abnahme des Gewichtes zwischen 40 g und 25 g. Die Gewichte der Gruppen 3 und 4 zeigten bei einigen Schwankungen abnehmende Tendenz.

In der Tab. 1 wurde aus jeder Gruppe 1 Tier herausgegriffen und beschrieben. Die übrigen Tiere verhalten sich gruppenweise ähnlich. Bei den Gruppen 2, 5 und 6 wurden unter a) zusätzlich unterkühlte Tiere,

unter b) nicht unterkühlte Tiere beschrieben, bei denen der Gewichtsabfall nicht so steil ist.

Temperaturverlauf. Sämtliche Kontrollen, auch die bei einer Raumtemperatur von 4° C gehaltenen, behielten ihre Temperatur von 36,3° C bei, ebenso die Tiere der Gruppen 3 und 4. Die Temperaturen der Tiere der Gruppen 2, 5 und 6 dagegen fielen ab. Die Senkung der Kerntemperatur trat bei dieser Gruppe sehr schnell nach der 1. Injektion auf und ging mit der Entwicklung der Tonusminderung und der Somnolenz bzw.

Tabelle 1.

Gruppe	1	2 a)	2 b)	3	4	5 a)	5 b)	6 a)	6 b)
Gewicht nach 0 Std	190	220	193	205	210	220	216	195	198
Versuchsdauer 6 Std	190	217	183	205	210	220	209	190	193
„ 12 Std	190	210	175	203	210	211	203	187	188
„ 24 Std	187	205	172	203	208	203	196	182	179
„ 48 Std	192	193	170	203	208	196	173	175	177
„ 60 Std	191	185	170	200	202	188	187	168	175

Bewußtlosigkeit parallel. Der Temperaturabfall war nicht einheitlich. Es zeigte sich, daß Beziehungen zwischen Körpergewicht und der Dosis des Megaphen bestanden. Bei den leichteren Tieren unter 210 g genügte eine Dosis von 2,5 mg, um die Temperatur bei 5stündlicher Gabe auf Werte von 25° C zu senken. Bei weiterer Unterkühlung konnten Kerntemperaturen zwischen 15° C und 18° C erreicht und über 48—60 Std aufrecht erhalten werden. Einzelne Tiere dieser Gruppe wurden auf Werte unter 15° C unterkühlt, wobei es sich zeigte, daß bei einer Kerntemperatur von 11—12° C der Tod eintrat. Die Temperaturen der schwereren Tiere dieser Gruppe (210 g und schwerer) konnten bei 5stündlicher Megaphengabe von 2,5 mg anfänglich nur auf Werte oberhalb 32° C gesenkt werden. Nur bei Erhöhung der Dosis gelang es, Werte von 25° C zu erreichen. Eine weitere Unterkühlung war dann mühelos möglich, während bei einer Kerntemperatur oberhalb 32° C eine zusätzliche Unterkühlung keine Senkung der Kerntemperatur bewirkte und die Tiere akut verstarben. Die Temperaturkurven der Tiere der Gruppen 5 und 6 verhielten sich wie die der Gruppe 2. Bei den Tieren unter 210 g Körpergewicht fiel die Kerntemperatur bei einfacher Megaphengabe auf Werte um 22° C kurz nach der 1. Injektion ab und blieb auf dieser Höhe über die Dauer des Versuches bestehen. Thyreotropin- und Thyroxinverabreichung führten zu keinerlei Änderung des Temperaturverlaufes. Eine zusätzliche Unterkühlung führte zu einem sofortigen weiteren Abfall der Temperatur auf Werte wie sie bei den Tieren gefunden wurden, die nur mit Megaphen behandelt waren. Die tiefen Temperaturen um 15° C waren schnell zu erreichen und bis zu 60 Std aufrecht zu halten. Auch bei dieser Gruppe lag die Grenztemperatur,

bei der der Tod eintrat, um 11° C. Bei den schweren Tieren dieser Gruppe zeigte sich, wie bei denen der Gruppe 2, daß bei Gaben von nur 2,5 mg Megaphen ein Abfall der Temperatur auf Werte von 25° C nicht zu erzielen war, sondern, daß die Temperatur nur wenig bis auf Werte oberhalb 33° C absank. Eine weitere Senkung der Körpertemperatur war nur durch Erhöhung der Megaphendosis auf 3,5 mg zu erreichen. Tiere mit einer Kerntemperatur oberhalb von 32° C reagierten auf die Zufuhr des Thyreotropins und des Thyroxins mit einem leichten, Schwankungen unterworfenen Anstieg der Kerntemperatur, während nach Erhöhung der Dosis und weiterem Abfall der Temperatur auf Werte von 25° C die Zufuhr der Hormone auch bei dieser Gruppe ohne jeden Effekt auf den Temperaturverlauf blieb. Selbst eine weitere Unterkühlung auf 15° C war zu erreichen.

Atem- und Kreislaufregulationen wurden nicht näher analysiert. Die einfache Beobachtung ergab eine Abnahme der Atemfrequenz bei der tiefen Unterkühlung auf Werte um 15 Inspirationen pro Minute. Die Herzfrequenz war ebenfalls signifikant vermindert. Die capillare O_2-Versorgung blieb ungestört, die Acren und der Augenhintergrund waren rosarot, ohne Anzeichen einer Cyanose und einer verminderten Sauerstoffversorgung.

Histologische Befunde.

Die Schilddrüsen der bei 18° C gehaltenen *Kontrollen* zeigen in ihrem histologischen Bild überwiegend kleine kolloidhaltige Follikel, nur in der Peripherie der Drüse fallen einige größere auf. Das Kolloid erscheint dünnflüssig, homogen und schwach mit saurem Farbstoff anfärbbar mit hellaufleuchtenden Vacuolen an der Kolloid-Epithelgrenze, die an manchen Stellen undeutlich ist, so daß die Follikelepithelien ohne scharfe Grenze in das Lumen des Follikels zu verdämmern erscheinen. Das Epithel liegt überall der Basalmembran dicht auf, ist hochzylindrisch bis prismatisch. Die Thyreocyten sind alle gleich groß, so daß sich ein ebenmäßiges, palisadenartiges Follikelzellbild ergibt. Die Zelleiber sind schwach acidophil, dabei fein granuliert, besonders an den Zellpolen, während um den Kern herum eine aufgehellte, in manchen Zellen wasserklare Zone deutlich wird. Der Kern ist locker strukturiert mit deutlicher Chromatinzeichnung. Häufig ist ein etwas dunklerer Nucleolus im Schnitt getroffen. Außerhalb des Folllkelepithelverbandes gelegene epitheliale Zellen (parafollikuläre Zellen) (Ehrenbrand 1953, 1954a; Scharf u. Mitarb. 1954, Eickhoff 1949, Ludwig 1951, Bargmann 1939, Watzka 1952, Okkels 1937, Sunder-Plassmann 1941, 1942a, b, c), sowie Epithelausknospungen (Feyrter 1938, Eggert 1938, Wölfler 1880) und Faltungen sind selten anzutreffen, aber deutlich vorhanden. Die Drüse ist stark vaskularisiert, in den interfollikulären Räumen liegen reichlich mit Erythrocyten vollgestopfte Capillaren. Das interfollikuläre gefäßführende Bindegewebe umgibt jeden einzelnen Follikel. Nirgends sind basalmembranlose Follikel zu erkennen. Die Kerne des Bindegewebes, besonders diejenigen der Endothelien, erscheinen etwas geschwollen und haben eine deutliche Chromatinstruktur. Die Drüse bietet somit ein aktives Funktionsbild (Ehrenbrand 1953, 1954a, Scharf u. Mitarb. 1954a, Bargmann 1939, Eickhoff 1949, Pichotka 1952, 1953, Wölfler 1880, Watzka 1934, 1942, 1952). Das Verhältnis der Drüse zur Zwischenhirn-Hypophysenfunktion erscheint ausgeglichen (Scharf 1954, Scharf u. Mitarb. 1954a, b, c, d). Die sekretorischen und resorptiven Leistungen der Drüse einerseits und die proliferativen andererseits gehen

Hand in Hand. Die Drüse bietet ein aktives Bild, sie steht mit einer entsprechenden thyreoproliferativen und thyreosekretorischen Funktion des diencephal-hypophysären Systems im Gleichgewicht (Scharf 1954, Scharf u. Mitarb. 1954a, b, c, d).

Die starke Aktivität der Kontrollschilddrüsen dürfte aus der Tierart, dem jugendlichen Alter der Tiere, der Nahrung (vorwiegend Fischmehl) und dem Aufenthalt bei 18° C zu erklären sein.

Die Schilddrüsen der *bei 4° C gehaltenen Kontrollen* zeigen das typische Bild der von Watzka (1934) beschriebenen *Kälteschilddrüse*.

Sie besitzen wesentlich kleinere Follikel als oben beschrieben, die auch nur noch wenig Kolloid enthalten, teilweise sind sie völlig frei von Kolloid, so daß die Lumina verloren gegangen sind, oder sie zeigen nur noch einen fädigen, kaum anfärbbaren

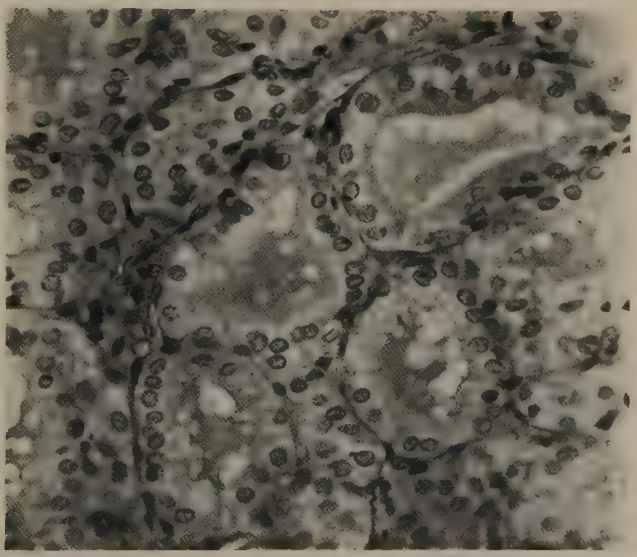


Abb. 1. Schilddrüse eines nicht unterkühlten Kontrolltieres. Hohes ebenmäßiges prismatisches Epithel der kleinen, nur wenig Kolloid enthaltenden Follikel. Locker strukturierte Kerne. Das typische Bild einer sekretorisch und resorptiv tätigen Drüse.

Inhalt. Das Epithel der Mikrofollikel ist hochzylindrisch, die Zellen sind blaß, das Protoplasma kaum mit Eosin anfärbbar. Besonders auffällig ist die perinucleäre Aufhellung. Diese beginnt in unmittelbarer Umgebung des Kerns und ergreift immer weitere Bezirke des Protoplasten, so daß manche Zellen völlig aufgehellt sind, wasserklar erscheinen, ohne deutliche Anfärbbarkeit des Zelleibs, der nur als lichtbrechende, fädige oder auch granulierte Struktur zu erkennen ist. Mit dieser Aufhellung der Zelle geht eine Größenzunahme und maximale Blähung einher. Manche Zellen haben einen ballonförmig aufgetriebenen Leib. Diese liegen meist an Stellen der Knospenbildungen und Faltungen oder subepithelial, sie kommen aber auch im Verband des Follikels vor, erscheinen dann aber noch nicht völlig aufgehellt. Sie sind mit den intra- und extrafollikulären Varianten der hellen parafollikulären Zellen (Ehrenbrand 1953, 1954a) identisch. Die Zellkerne sind maximal aufgelockert, sie zeigen eine deutliche und sehr feine Chromatinstruktur, der auffällig dunkle Nucleolus liegt häufig in der Schnittebene. Mitosen aller Stadien

sind reichlich vorhanden, besonders in den Knospen und Faltungen des Epithels, sowie in den subepithelial liegenden aufgetriebenen Zellen. An vielen Stellen formieren sich die aus dem Mutterzellverband ausscheidenden hellen Zellen zu neuen Mikrofollikeln unter geringer Zunahme der Färbbarkeit bei erhaltener perinucleärer Aufhellung des Protoplasmas und unter geringer Kernverdichtung. Diese neuen Follikel liegen zunächst noch innerhalb der Basalmembran des Mutterfollikels, später werden sie durch reichlichst einsprossende Capillaren selbstständig bindegewebig umhüllt. In den Drüsen dieser Tiere liegen alle beschriebenen Stadien der Proliferation und Sekretion nebeneinander vor. Im Bereich der Knospen und Epithelfaltungen sind die aufhellenden Umbauprozesse nie so stark ausgeprägt wie bei den parafollikulären Zellen: die ersteren behalten vielmehr Anzeichen ihrer

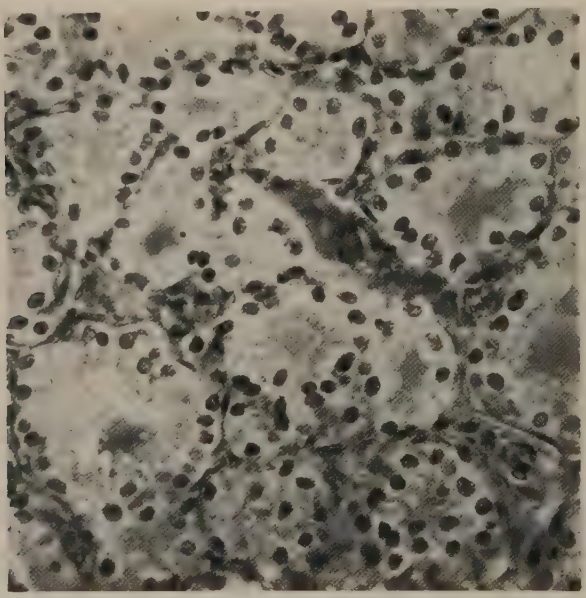


Abb. 2. Schilddrüse eines unterkühlten Kontrolltieres. Sehr kleine, kaum kolloidhaltige Follikel, die an manchen Stellen völlig kollabiert sind, so daß solide Zellhäufchen und Trabekel entstanden sind. Maximale Aufhellung der Zellen, von perinucleären Zonen ausgehend. Kerne teils locker strukturiert, teils pyknotisch mit Anzeichen der Kernwandhyperchromatose. Starke Capillarisierung. Parafollikulär liegende aufgehellte Zellen. Typische „Kälteschilddrüse".

sekretorischen Funktion bei. Mitosen sind hier seltener nachweisbar, verlaufen offenbar schneller und bilden so in kürzerer Zeit funktionstüchtiges Epithel. So stehen in diesen Drüsen bei erhöhtem, länger andauerndem Bedarf an Inkret in der Peripherie nach einer vorangehenden Kolloidentleerung prolerative Prozesse im Vordergrund zum Zwecke der Beschaffung eines weiteren funktionstüchtigen Epithels. Die Drüse steht zum diencephal-hypophysären System mit seinem thyreoproliferativen und thyreosekretorischen Prinzip nicht im Gleichgewicht, die Ausschüttung des Thyreoproliferins überwiegt (Scharf 1954, Scharf u. Mitarb. 1954a, b, c, d).

Die *nicht zusätzlich unterkühlten Tiere der Gruppe 2* zeigen die gleiche mikroskopische Struktur der Schilddrüse wie die nicht unterkühlten Kontrollen. Auch nach 48—60stündiger Megaphenverabreichung sind kleine Follikel vorhanden, das

Kolloid ist schwach acidophil anfärbbar, erscheint dünnflüssig, in manchen Mikrofollikeln liegt nur eine chromophobe, fädige Substanz (HAGEN 1928). Das Epithel ist prismatisch bis hochzylindrisch, manche Zellen verlieren sich lumenwärts und sind unscharf begrenzt. Die Zelleiber zeigen deutliche perinucleäre Aufhellungen im verschiedenen Ausmaß. Die Kerne sind rund bis längsoval, aufgelockert und fein strukturiert. Der dichtere Nucleolus ist häufig im Schnitt getroffen. Im ganzen bietet das Epithel ein ebenmäßiges, palisadenartiges Bild. Außerhalb des Epithelverbandes liegende parafollikuläre Zellen sowie ihre ausgeprägte intrafollikuläre Variante sind sehr selten, aber vorhanden, ebenso Faltungen des Epithels und Knospungen. Die einzelnen Follikel sind jeder für sich von einem zarten, reichlich Capillaren führenden Bindegewebe umsponnen. Die Kerne des Bindegewebes sowie

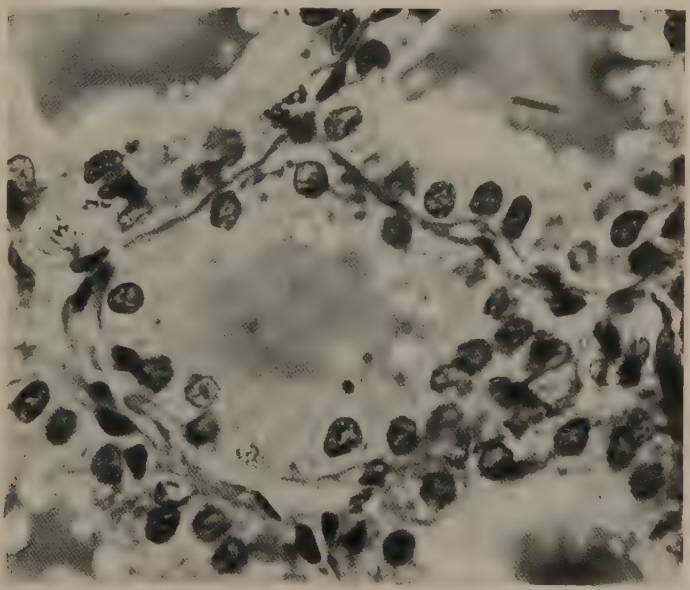


Abb. 3. (Öl)Schilddrüse eines nicht unterkühlten Tieres der Gruppe 2. Kleine, nur wenig Kolloid enthaltende Follikel, zylindrisches Epithel, das aufgehellt erscheint, locker strukturierte Kerne mit deutlicher Chromatinzeichnung. Intraepitheliale Capillaren. Das typische Bild einer resorptiv und sekretorisch tätigen Drüse ohne Anzeichen einer Ruhigstellung.

die der Capillarendothelien sind geschwollen und deutlich strukturiert. An dieser Drüse sind, wie auch in denen der Kontrollen, größere Follikel nur subcapsulär (PICHOTKA 1952, 1953) nachzuweisen. Diese enthalten aber ebenfalls ein hohes, zylindrisches Epithel. Diese Drüse bietet rein morphologisch bei Untersuchung mit der Hämalaun-Eosinfärbung das Bild einer sezernierenden Drüse, die mit den übergeordneten stimulierenden Stellen in einem sekretorisch-proliferativen Gleichgewicht steht, und somit mit den nicht unterkühlten Kontrollen identisch ist.

Die *zusätzlich unterkühlten Tiere der Gruppe 2* wurden vor der Verabreichung des Megaphen mit den unterkühlten Kontrollen zusammengehalten. Bei Beginn der Megaphenverabfolgung wurden die Kontrollen getötet und der Untersuchung zugeführt, so daß es sehr wahrscheinlich ist, daß die megaphenbehandelten Tiere zu Beginn der Applikation des Mittels ebenfalls die gleiche Struktur aufwiesen wie die Kontrollen.

Man findet ein Vorherrschen der Mikrofollikel, die nur sehr wenig schwach acidophiles Kolloid enthalten, teilweise völlig von Kolloid entleert sind und nur wenig chromophobe Fadenstrukturen in den Lumina enthalten. An der Epithel-Kolloidgrenze finden sich reichlich hell aufleuchtende Vacuolen. Teilweise sind die Follikelhohlräume ganz geschwunden, so daß die Epithelien wie solide Zelltrabekel erscheinen (Watzka 1934, 1942, 1952; Wölfler 1880). Die Thyreocyten sind hochprismatisch und blaß. Die früher beschriebene perinucleäre Aufhellungszone ist wie bei den unterkühlten Kontrollen stärker ausgedehnt als bei den nicht unterkühlten Kontrollen und den nicht vor der Megaphenverabreichung unterkühlten Versuchstieren. Sie nimmt bei den meisten Zellen den ganzen Protoplasten bis auf einen

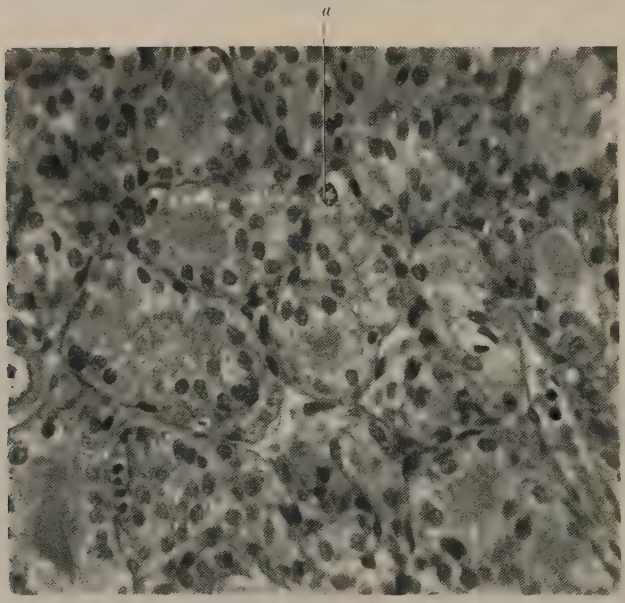


Abb. 4. Schilddrüse eines unterkühlten Tieres der Gruppe 2. Zusammenbruch der Follikel, dadurch entstehen solide Zellhäufchen und Trabekel. Hohes Epithel mit beginnender perinucleärer Aufhellung Entwicklung parafollikulärer Zellen (*a*) Starke Capillarisierung, zum Teil intraepithelial. Typische Kälteschilddrüse.

kleinen Saum im Bereich der Zellpole ein. Gleichzeitig ist die Acidophilie des Protoplasmas einer Chromophobie gewichen. Das Plasma erscheint wie bei den unterkühlten Kontrollen fast leer und ist nur als eine zartgranulierte, schwach lichtbrechende Substanz zu erkennen. Mit dieser Aufhellung der Zelleiber ist eine Volumenzunahme bis zur Blähung der Zelle verbunden, die wie oben beschrieben, ihre stärksten Grade in den subepithelial verschobenen, offenbar aus dem Follikelepithelverband ausscheidenden Zellen findet, die mit den extrafollikulären Varianten der parafollikulären Zellen identisch sind. Die Kerne der Follikelepithelien sind maximal aufgelockert, erscheinen bläschenförmig und zeigen ein zartes, deutliches Chromatingerüst. Der Nucleolus erscheint besonders dunkel und dicht. Im Bereich der gehäuften Knospenbildungen und Faltungen des hochprismatischen Epithels, besonders aber in den ballonförmig aufgetriebenen, subepithelial liegenden Zellen und an Stellen der Mehrschichtigkeit des Epithels, sind zahlreiche Mitosen aller Stadien zu erkennen. An manchen Stellen lagern sich die aus dem Epithelverband

austretenden Zellen zu neuen Mikrofollikeln um und nehmen dabei in geringem Grade wieder an Färbbarkeit zu. Diese neugebildeten Follikel liegen zunächst noch umgeben von der Basalmembran des Mutterfollikels, an anderen Stellen dagegen ist durch Einsprossen jungen gefäßführenden Bindegewebes schon eine eigene Umscheidung der neugebildeten Drüsenbläschen erreicht. Ebenso sind die verschiedenen Stufen der bindegewebigen Abschnürung der Falten und Knospen zu erkennen. In den interfollikulären Spalten finden sich reichlich Capillaren, die mit Erythrocyten prall gefüllt sind und wie bei den unterkühlten Kontrollen teilweise zwischen Epithel und Basalmembran verlaufen. Die Kerne des Bindegewebes sind geschwollen und deutlich strukturiert.

Die Drüsen der vor der Megaphenverabreichung unterkühlten Tiere sind somit in ihrem färbehistologischen Strukturbild mit den unterkühlten Kontrollen identisch.

Die Schilddrüsen der *Gruppe 3* zeigen ein wesentlich ruhigeres Strukturbild als alle bisher beschriebenen. Alle Follikel sind kolloidhaltig, auffallend größer, das Kolloid ist soweit färbbar stärker acidophil. Es ist so sehr eingedickt, daß an manchen Stellen in der Kolloidmasse Sprünge durch den Schnitt bewirkt werden. Das Epithel ist flacher als bei den bislang beschriebenen Drüsen. Die Protoplasten sind deutlich acidophil und granuliert, perinucleäre Aufhellungen sind nicht zu erkennen. Die Zelleiber sind gleichmäßig chromophil und von dem Follikellumen deutlich abgesetzt. Die Protoplasten sind klein, geblähte Zellen sind nirgends zu erkennen. Die Zellkerne besitzen eine deutliche Chromatinstruktur. Sie sind aber wesentlich kompakter gebaut als die bisher beschriebenen und erscheinen demzufolge dichter und dunkler. Außerhalb des Follikelepithels liegen an einigen Stellen Zellgruppen, die sich in ihrem cytologischen Verhalten nicht von denen des Epithelverbandes unterscheiden. An manchen Stellen haben sich diese Zellen zu Mikrofollikeln umgelagert. Knospen und Epithelfaltungen sind nicht zu erkennen. Mitosen sind weder im Epithelverband noch in den parafollikulären Zellen anzutreffen. Die einzelnen Follikel sind gegeneinander gut durch gefäßführendes Bindegewebe abgegrenzt, die Vascularisierung tritt aber gegenüber den bislang beschriebenen Drüsen weit zurück. Somit bieten die Drüsen dieser Gruppe einen inaktivierten Zustand (Kuschinsky 1933; Kleinrensing 1953 und Schaumkell 1954). Durch die Hemmung der Zwischenhirn-Hypophysenfunktion durch Thyroxin beginnt sich die Drüse zu einer deutlichen Stapelschilddrüse umzuwandeln, ohne daß jedoch das volle Bild derselben schon entwickelt ist. Der relative Reichtum an parafollikulär liegenden Zellen ist dadurch zu erklären, daß es sich um eine ehemals aktive Drüse handelte (siehe Kontrollen), bei der neben einer sekretorischen auch eine gewisse proliferative Tendenz bestand, deren durch das Thyroxin abgebremste Überreste noch erhalten sind.

Die Schilddrüsen der Tiere der *Versuchsgruppe 4* zeigen fast nur Mikrofollikel, die sehr wenig schwach acidophiles Kolloid mit zahlreichen Randvacuolen enthalten, manche Follikel sind völlig von Kolloid entleert oder zeigen nur einen fädigen oder granulären chromophoben Inhalt. Das Epithel ist hochprismatisch und palisadenförmig, an manchen Stellen sind infolge des durch die Kolloidresorption bedingten Zusammenbruches der Follikel solide Zellbälkchen entstanden. Die Protoplasten sind maximal aufgehellt und erscheinen geblähte. Das Protoplasma ist besonders in der Umgebung des Kernes wasserklar und chromophob und enthält nur etwas granulierte, schwach lichtbrechende Substanz. Innerhalb mancher Zellen ist der Prozeß der Aufhellung und Schwellung so weit gegangen, daß große, bläschenförmige Zellen entstanden sind (Ehrenbrand 1953, 1954a), die zum Teil aus dem Follikelepithelverband ausgeschieden sind oder subepithelial liegen. An anderen Stellen finden sich Faltungen des hochprismatischen Epithels und Knospenbildungen. Die Zellkerne sind rund bis längsoval und liegen in der Mitte der Zelle

oder etwas zur Basis verschoben. Sie sind stark aufgelockert, haben eine deutliche feine netzartige Chromatinstruktur. Nur in einigen Kernen ist das Chromatin radspeichenartig angeordnet, in anderen als Kernwandhyperchromatose. Die Kerne erscheinen insgesamt bläschenförmig. Mitosen aller Stadien sind in diesen Organen reichlich enthalten, besonders in den subepithelial liegenden parafollikulären Zellen. Im Bereich der Follikelknospungen sind Kernteilungen seltener zu erkennen. Häufig werden bis zu drei Follikeln von einer gemeinsamen Basalmembran und Capillarnetz umgeben. An anderen Stellen ist das Einwachsen eines jungen, gefäßführenden Bindegewebes zwischen die neu entstandenen Follikel zu erkennen, so

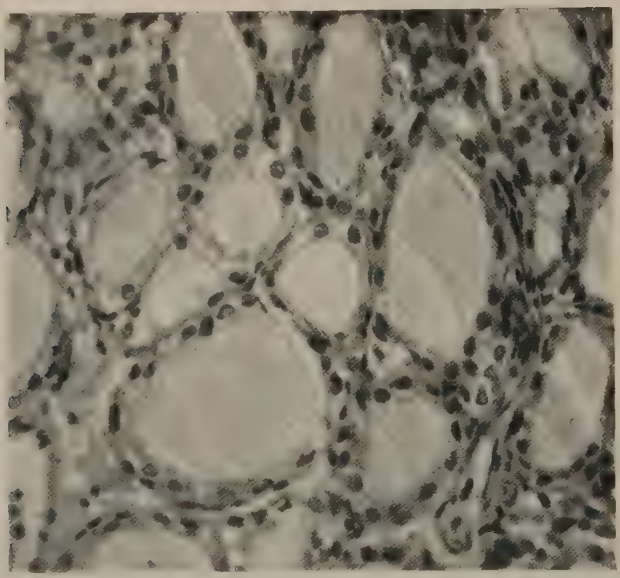


Abb. 5. Schilddrüse eines Tieres der Gruppe 3. Große kolloidhaltige Follikel, abgeflachtes Epithel, Kerne teilweise dunkel. An manchen Stellen liegen noch zwischen den großen Follikeln parafollikuläre Zellen als Reste der ehemaligen Aktivität. Dieses Bild ist typisch für eine Abbremsung der Aktivität der Drüse durch Thyroxin.

daß dann jeder einzelne Follikel bindegewebig abgeschieden und mit einer Basalmembran versehen ist. Bis zu diesem Endstadium sind alle Übergänge sichtbar. Zwischen dem Epithel und der Basalmembran sind nicht selten Capillaren zu erkennen.

Die Drüse stellt einen sehr aktiven Funktionstypus dar. Neben einer abgelaufenen Resorption und Sekretion des Kolloids stehen nun proliferative Prozesse im Vordergrund. Die Drüse befindet sich mit den thyreosekretorischen und thyreoproliferativen Funktionen des diencephal-hypophysären Systems nicht im Gleichgewicht, es überwiegt die Proliferation.

Die Schilddrüsen der leichteren Tiere der *Gruppe 5* (unter 210 g) zeigen, je nach dem, ob die Tiere vor der Megaphenverabreichung unterkühlt wurden oder nicht, ein verschiedenes histologisches Strukturbild. Die nicht vor der Medikation unterkühlten Tiere sind in ihrer Drüsenstruktur weitgehend mit den nicht unterkühlten Kontrollen identisch. Man findet vorwiegend kleine Follikel, die nur wenig, aber deutlich sichtbares acidophiles Kolloid mit hell aufleuchtenden Vacuolen an der Epithel-Kolloidgrenze enthalten. Das Epithel ist hochzylindrisch, die Zelleiber

sind granuliert und schwach acidophil. Nur perinucleär finden sich Aufhellungszonen, in denen das Plasma seine Anfärbbarkeit verloren hat. Zellen vom Typus der hellen Zellen sind vorhanden, aber gegenüber den vor der Verabreichung des Mittels unterkühlten Tieren seltener. Sie zeigen neben der typischen, von dem perinucleären Saum ausgehenden Aufhellungszone, die sich teilweise auf die ganze Zelle ausgebreitet hat, eine Volumenzunahme der Protoplasten, die mit einer ausgesprochenen Chromophobie einhergeht. Diese Zellen erscheinen daher wasserklar. Epithelknospungen und -faltungen sind selten anzutreffen, aber vorhanden. Die Zellkerne sind stark aufgelockert, zeigen eine sehr feine Struktur und erscheinen bläschenförmig mit einer radspeichenartigen Anordnung des Chromatins. Mitosen finden sich in diesen Organen selten. Man trifft sie am ehesten in den parafollikulär liegenden Zellen an, ferner in den subepithelial verschobenen großen blassen Zellen sowie in den seltenen Faltungen und Knospen des Epithels. Fast alle Follikel sind von capillarreichem Bindegewebe umsponnen und besitzen jeder für sich allein eine Basalmembran. Nur selten werden zwei oder mehr Follikel von einer Basalmembran umfaßt. Abschnürungen der Ausknospungen sind vorhanden, wenn auch nur selten.

Diese Drüse stellt also den Typus einer aktiven Drüse dar, bei der die resorptiven Leistungen mit den proliferativen Hand in Hand gehen, also ein Funktionsbild, das mit den nicht unterkühlten Kontrollen vergleichbar ist. Die Drüse befindet sich in einem aktivierten Funktionszustand, der hinsichtlich seiner sekretorischen und proliferativen Funktion ausgeglichen erscheint. Die Drüse scheint mit den entsprechenden hormonellen Leistungen des diencephal-hypophysären Systems (bei leichter Betonung der Proliferation) im Gleichgewicht zu stehen.

Die Drüsen derjenigen Tiere, die vor der Megaphenverabreichung bei tiefen Temperaturen gehalten wurden, zeigten in ihrem Strukturbild ein Verhalten wie die unterkühlten Kontrollen. Man findet sehr kleine Follikel, stellenweise ist das Kolloid vollständig aus dem Lumen resorbiert, so daß solide Epithelstränge entstanden sind (Watzka 1934; Wölfler 1880). Stellenweise liegt eine kaum anfärbbare fädige Substanz in den Mikrofollikeln. Das Epithel ist überall hochzylindrisch, die Protoplasten sind maximal aufgehellt oder zeigen erhebliche perinucleäre Aufhellungen in verschiedenem Ausmaß. Häufig liegen helle Zellen des parafollikulären Typs mit ihren ballonförmig aufgetriebenen Zelleibern außerhalb des Epithelverbandes oder subepithelial. Die Kerne sind locker strukturiert, zeigen ein feinfädiges Chromatingerüst und erscheinen bläschenförmig. Mitosen aller Stadien sind recht häufig anzutreffen, besonders in den intra- und extrafollikulären Varianten der parafollikulären Zellen. Knospen und Epithelfaltungen sind in der Drüse enthalten. Das interfollikuläre Bindegewebe ist reich capillarisiert. Teilweise werden zwei und mehr Follikel von einer gemeinsamen Basalmembran umgeben, besonders an solchen Stellen, an denen sich Epithelausknospungen und aus dem Epithelverband ausgeschiedene Zellen zu neuen Mikrofollikeln formiert haben. An manchen Stellen sieht man, wie zwischen die neu entstandenen Follikel junges, Capillarknospen führendes Bindegewebe eindringt.

Es handelt sich bei diesen Drüsen um hochaktive Organe, die sich nicht von den entsprechenden Kontrollen unterscheiden. Neben einer starken und resorptiven, sekretorischen Aktivität findet man Anzeichen einer forcierten Proliferation, so daß von den thyreosekretorischen und thyreoproliferativen Komponenten der Hypophysenfunktion die letztere überwiegt.

Bei Megaphenverabfolgung zeigte sich, daß nur ein Teil der Tiere ihre Korntemperatur auf Werte um 25° C senkte. Ein anderer Teil der Tiere verharrte bei einer Temperatur von 33—32° C. Bei näherer Kontrolle ergab sich, daß alle diese Tiere ein Gewicht oberhalb 210 g aufwiesen. Offenbar hat die Megaphendosis von

2,5 mg, die nicht auf das Körpergewicht, sondern pro Tier berechnet war, nicht ausgereicht, um eine vollständige Senkung der Kerntemperatur zu bewirken. Eine Erhöhung der Dosis auf 3,5 mg führte prompt zu einer weiteren Senkung der Kerntemperatur wie bei den übrigen Tieren. Eine zusätzliche Thyreotropinzufuhr bei diesen Tieren über 210 g mit einer Temperatur um 32° C führte zwar nicht zu einer Normalisierung der Kerntemperatur, aber zu erheblichen Schwankungen mit ansteigender Tendenz. Ein Beispiel eines Tieres dieser Gruppe, die also zufällig gefunden wurde, soll im folgenden beschrieben werden:

Die Drüse zeigt ein Überwiegen der Mikrofollikel. Das Kolloid ist zum größten Teil resorbiert, so daß solide Zellbälkchen entstanden sind wie bei den durch Kälte

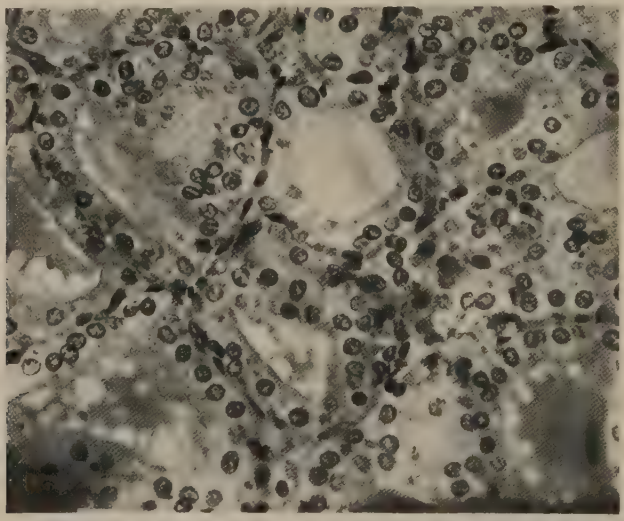


Abb. 6. Schilddrüse eines Tieres der Gruppe 6. Kleine Follikel, wenig Kolloid mit hell aufleuchtenden Randvacuolen, zylindrisches Epithel, an manchen Stellen Epithelfalten und -knospen, deutliche Capillarisierung. Keinerlei Anzeichen einer Ruhigstellung.

und Thyreotropinzufuhr stimulierten Kontrollen. Teilweise findet man wie bei diesen Tieren nur einen teils fädigen, teils granulären, chromophoben Inhalt. Das Epithel ist hochzylindrisch bis prismatisch. Die Zelleiber sind maximal aufgehellt. Von deutlichen perinucleären Aufhellungszonen bis zur völligen wasserklaren Zelle sind alle Übergänge nachzuweisen, bei Überwiegen der letzteren. Mit der Aufhellung und Abblassung sowie der Zunahme der Chromophobie geht eine Volumenzunahme der Zelle einher, so daß (wie bei entsprechenden Kontrollen) ballonartige Zellen entstehen, die teils subepithelial, teils schon außerhalb des Epithelverbandes liegen. Als intra- und extrafollikuläre Variante der parafollikulären Zellen sind sie unschwer zu erkennen. Epithelknospungen und Faltungen sind vorhanden. Die Zellkerne sind locker strukturiert und bläschenförmig. Sie besitzen ein feinfädiges Chromatingerüst. Nur in manchen Kernen findet sich eine Kernwandhyperchromatose. Mitosen aller Stadien finden sich besonders in den parafollikulären Zellen. Das gefäßführende interfollikuläre Bindegewebe ist sehr reich capillarisiert. Häufig werden bis zu drei Follikel von einer gemeinsamen Basalmembran umgeben. An anderen Stellen sieht man, wie junges Bindegewebe um frische Capillarknospen die neu entstandenen Mikrofollikel von dem Mutterfollikel durch Einsprossung in die interfollikulären Räume abzutrennen beginnt.

So zeigt diese Drüse ein Strukturbild, wie man es von Schilddrüsen kennt, die aktiviert sind und bei denen neben einer sekretorischen und resorptiven Funktion die hypophysenbedingte Proliferation überwiegt. Die Tiere dieser Gruppe (schwerer als 210 g, mit nachträglich heraufgesetzter Megaphendosis von 2,5 mg auf 3,5 mg) zeigen nach Thyreotropinzufuhr ein Strukturbild, das mit den unterkühlten Kontrollen und auch mit den leichteren Tieren dieser Gruppe vergleichbar ist. Die Beschaffenheit der Follikel, des Kolloids der Thyreocyten und der parafollikulären Zellen stimmt mit diesen Drüsen überein.

Die Schilddrüsen der *Gruppe 6* zeigen überwiegend Mikrofollikel! Nur in der äußersten Peripherie der Drüse findet man subcapsulär einige größere Follikel, die auch im Gegensatz zu den zentral gelegenen noch reichlich Kolloid enthalten. Sonst ist das Kolloid bis auf wenige Reste einer schwach acidophilen Substanz aus den Follikeln herausgelöst. Man findet hell aufleuchtende Randvacuolen, die auf eine stärkere sekretorische oder resorptive Tätigkeit der Drüse hindeuten. Das Epithel ist hochzylindrisch. Im Bereich der lockeren und eine feine Chromatinstruktur aufweisenden Kerne findet man schmale, perinucleäre Aufhellungen, wie bei den nicht unterkühlten Kontrollen. Das übrige Protoplasma ist schwach acidophil, leicht und fein granuliert. Zellen vom Typus der intra- und extrafollikulären Variante der parafollikulären Zellen sind vorhanden, treten aber zahlenmäßig hinter den durch exogene Thyreotropinzufuhr und Kälte aktivierten Drüsen zurück. Sie scheinen sich zahlenmäßig wie bei den nicht unterkühlten Kontrollen zu verhalten. Ebenso liegen die Verhältnisse bei den Knospen und Epithelfaltungen. Mitosen sind in den Organen dieser Gruppe vorhanden; sie sind aber nicht so häufig wie bei den aktivierten Drüsen. Das interfollikuläre Bindegewebe ist gut capillarisiert und umgibt bis auf wenige Ausnahmen jeden einzelnen Follikel.

So stellt die Drüse einen aktivierten Funktionszustand dar, der mit den nicht unterkühlten Kontrollen in jedem Punkt verglichen werden kann.

Ergebnisse.

Unter Berücksichtigung des Temperaturverlaufes, der allerdings nur näherungsweise als Stoffwechselindicator angesehen werden kann, und bei Beachtung der gesteigerten Diurese der mit Megaphen behandelten Tiere darf der Gewichtsverlust als Wasserverlust angesprochen werden. Es erscheint unwahrscheinlich, daß bei gedrosseltem Stoffwechsel dissimilierende Prozesse in diesem Ausmaß ablaufen. Klinische Beobachtungen über die unter Megapheneinwirkung gesteigerte Diurese sprechen ebenfalls dafür (Ratschow 1953).

Die histologischen Befunde zeigen, daß nach Anwendung einer genügenden Megaphendosis jegliche Morphokinese der Schilddrüse aufgehoben ist. Die Drüsen bieten das gleiche Bild wie die bis zum Beginn der Megaphenverabreichung unter gleichen Bedingungen gehaltenen Kontrollen. Daraus ist zu schließen, daß eine Transformation der Drüse nicht mehr möglich ist, die Thyreoidea ist in demjenigen Zustandsbild erstarrt, das sie vor dem Beginn der Megaphenzufuhr darbot. Sie ist weder durch Kälte oder exogene Thyreotropinzufuhr über ihren an sich schon aktiven Funktionszustand weiter zu aktivieren, noch ist es bei gleichzeitiger Thyroxinanwendung möglich, in der Drüse Umbauvorgänge auszulösen (Kuschinsky 1933; Kleinrensing 1953), die auf eine

beginnende Ruhigstellung und auf die Entwicklung einer Stapeldrüse hindeuten. Nur die Tiere mit einem Körpergewicht oberhalb 210 g machen hiervon eine Ausnahme. Hier ist die Drüse (bei einer Megaphendosis von 2,5 mg und einer Kerntemperatur von Werten um 32° C) noch reaktionsfähig gegenüber dem Thyreotropin. Eine Erhöhung der Dosis auf 3,5 mg hebt wie bei den übrigen Tieren jede Transformation auf.

Besprechung der Befunde.

Das von Laborit (1951, 1952a, b, c, d, e, f, 1953a, b) und Hugenard (1951) inaugurierte Verfahren der „Hibernation arteficielle" geht von Überlegungen des Reilly-Syndrom (Laborit 1952c; Irmer u. Koos 1953), der Cannonschen Katastrophentheorie und von Begriffen des Selyeschen Adaptationssyndroms (Selye 1952, 1953a, b) aus. Laborit u. Hugenard glauben durch Anwendung verschiedener Phenothiazinderivate eine gezielte Ausschaltung der für die Gegenregulationen verantwortlichen Zentren und Bahnen zu erreichen. Dabei verwickeln sich gerade die Inauguratoren (Aron u. Mitarb. 1953; Cahn u. Mitarb. 1953a, b) dieser Auffassung in grundlegende Widersprüche. Die Hemmung der Nebennierenfunktion soll eines der Kardinalmerkmale des künstlichen Winterschlafes sein und die hemmenden Substanzen einmal für die verminderte Ausschüttung der Hypophysenhormone verantwortlich sein (Aron u. Mitarb. 1953). Andere oder auch die gleichen Autoren sprechen von einer Schutzwirkung der Phenothiazinkörper auf die peripheren Hormondrüsen direkt gegenüber dem ACTH (Georges u. Cahn 1953). Sie fassen die Substanzen sogar als Desensibilisatoren gegenüber beispielsweise dem ACTH auf, sprechen aber andererseits wenige Zeilen weiter von der „unleugbaren corticotropen Wirkung der lytischen Kombination" selbst (Georges u. Cahn 1953). Sie versuchen an Hand nicht immer sehr verläßlicher Tests den Beweis dafür zu erbringen. Der Eosinopenietest und der Nachweis des Vitamin C in der Nebenniere (im Sinne des Sayer-Test) allein für sich (beide noch recht umstritten) sind nicht in der Lage, den Funktionszustand der Nebennierenrinde hinreichend zu charakterisieren (Bachmann 1954, Ehrenbrand 1954b, Müller 1952). Ein Phenothiazinderivat für sich allein oder eine Kombination mehrerer kann niemals zugleich „Stressor" im Sinne einer Aktivierung der Nebennierenrinde, die ja über das ACTH verläuft, und eine Substanz sein, die dem ACTH an der Nebenniere den Angriffspunkt nimmt. Ein weiterer wesentlicher Widerspruch in der Auslegung der Phenothiazinwirkung liegt vor, wenn Laborit, Favre, Dechen u. Bastit 1953) den Gewichtsverlust der Tiere auf einen gesteigerten Eiweißumsatz beziehen und vermuten, daß infolge der Blockierung des Nebennieren-Hypophysen-Systems die Verbrennung von vorhandenen Kohlenhydraten vermindert ist und deshalb der Organismus gezwungen

wird, auf dem Wege der Neoglukogenese (Grosse-Brockhoff 1950, Lenartz 1952, Lang 1953) Eiweiß und Fett in Kohlenhydrat umzuwandeln. Erstens wäre zu dieser Leistung die Nebennierenrinde und die ihrer Ansicht nach gehemmte Hypophyse mit ihrem somatotropen Hormon nötig (Grosse-Brockhoff 1950, Reinwein 1952, Lang 1953), und zweitens wäre, wenn auf einem derartigen Wege der Neoglukogenie neues Kohlenhydrat entstehen würde, nichts erreicht; denn es steht ja von vornherein genügend Kohlenhydrat zur Verfügung. Wenn vorhandenes Kohlenhydrat schon auf Grund einer Hemmung der Rinde nicht verbrannt werden kann, dann kann ebenso neugebildetes Kohlenhydrat nicht dem intermediären Stoffwechsel zugeführt werden (Lang 1953), ja im Verlauf intermediärer metabolischer Stoffwechselvorgänge gar nicht erst entstehen. Entweder ist die Nebenniere gehemmt und dann zu allen hormonellen Leistungen, die ihr normalerweise zukommen, nicht in der Lage oder aber sie ist nicht gehemmt. Eine einseitige Verminderung oder Mehrproduktion im Sinne einer Verschiebung des Hormonspektrums der Rinde gibt es nicht, abgesehen von pathologischen Entgleisungen wie beim Morbus Cushing bei verschiedenen dyshormonellen Tumoren des Organs oder nach langdauernder Zufuhr des adrenocorticotropen Hormons (Hechter 1953, Tonutti, Bahner u. Muschke 1954). Vermehrte Produktion eines Hormons geht niemals auf Kosten eines anderen morphologisch unauffällig vor sich (Hechter 1953, Tonutti 1954, Tonutti u. Mitarb. 1954), sondern ist immer mit einer entsprechenden progressiven Transformation der Rinde verbunden, was angeblich unter Megapheneinwirkung ausgeschlossen sein soll und tatsächlich auch ist[1]. Außerdem kämen für die Neoglukogenese und die Phosphorylierung auf dem Wege der biologischen Oxydation weitgehend die gleichen Hormone in Betracht, die ja nicht gleichzeitig zu einer Leistung vorhanden sind und nicht vorhanden sein können (Lenartz 1952; Grosse-Brockhoff 1950). Der Gewichtsverlust der Tiere ist bei der beobachteten Diurese, die auch klinisch bestätigt wird (Ratschow 1953), sicherlich in erster Linie ein Wasserverlust. Ob es sich um einen reinen Diuretinmangel handelt oder um eine Minderleistung der Nierentubuli (Schaumkell 1954) oder um eine Kombination beider Ausfälle, wird in weiteren Untersuchungen des Zwischenhirns und der Nieren bearbeitet.

Neben der Hemmung der Nebennierenfunktion steht die Hemmung der Schilddrüse, die ebenfalls auf Grund eines Ausfalles der schilddrüsenstimulierenden Hormone, also zentral bedingt sein soll (Cahn, Dubrasquet u. Mitarb. 1953a, b). Cahn u. a. sprechen von einer Involution des peripheren inkretorischen Apparates und glauben, daß nach Zufuhr der Phenothiazinkörper eine Entwicklung in der Drüse einsetzt,

[1] Die bei diesen Untersuchungen gefundenen Ergebnisse der Nebennierenrinde werden noch beschrieben.

die zur Ausbildung einer Winterschlafschilddrüse mit Kolloidzunahme, Vergrößerung der Follikel und Verflachung des Epithels sowie zur Minderdurchblutung führt. Eine regressive Transformation der Drüse kann in eigenen Beobachtungen nicht gezeigt werden. In einer weiteren Studie vermissen jedoch die gleichen Autoren (Cahn u. Mitarb. 1953a, b) die morphologischen Anzeichen einer Inaktivierung, ebenso Filk u. Mitarb. (1954).

Jentzer, Corboud u. Müller (1953) haben gezeigt, daß die Aufnahme von J^{131} zur Zeit der Phenothiazinverabreichung vermindert bis ganz aufgehoben ist. Diese Befunde sind von einer Reihe von Autoren (Bobbio u. Goffrini 1952; Goffrini u. Scorta 1953; Jentzer 1952; Verczar u. Mitarb. 1953) bestätigt worden und deuten auf eine funktionelle Ruhe der Schilddrüse hin.

Diese Inaktivität des Organs ist aber nicht mit einem Umbau verbunden, wie man ihn von winterschlafenden Tieren her kennt (Watzka 1934, 1938, 1941; Kayser 1950) oder von Schilddrüsen nicht winterschlafender Tiere und auch des Menschen, wenn diese durch Zufuhr von Thyroxin über eine verminderte Produktion der schilddrüsenstimulierenden Hormone gehemmt und in Stapeldrüsen transformiert wurden (Kuschinsky 1933; Kleinrensing 1953). Vielmehr kommt es im Gegensatz zur Ansicht Laborits (1951a, b, 1952a, b, c, d) nicht zu einer morphologischen Involution, die in jedem Falle eine regressive Transformation und eine aktive Leistung der Drüse darstellt. Dagegen bleibt bei einer genügenden Megaphendosis das Strukturbild der Drüse, wie es vor der Verabreichung vorlag, erhalten bei gleichzeitiger funktioneller Ruhe. Ein weiterer grundsätzlicher Unterschied zum normalen Winterschlaf liegt in der Reaktion der Drüse auf Thyreotropin. Bei winterschlafenden Tieren findet man auf eine Thyreotropininjektion eine Aktivierung der Stapeldrüse mit einer Resorption von Kolloid, einer Verkleinerung der Follikel und Anzeichen einer über die Zeit der Wirksamkeit des Hormons bestehenden sekretorischen Leistung der Zellen. Diese Befunde beweisen, daß beim echten Winterschlaf die Schilddrüse reagiert, die hypophysäre Stimulierung der Schilddrüse vermindert ist und daß es sich um einen zentral gesteuerten Vorgang handelt, der durch exogene Zufuhr des vermindert ausgeschütteten Hormons unterbrochen werden kann. Eine Substitution ist also möglich, und die Ansprechbarkeit der Schilddrüse völlig normal. Das Wesentliche am natürlichen Winterschlaf ist daher eine gesteuerte Minderleistung des Zwischenhirn-Hypophysen-Systems. Unter Einwirkung der Phenothiazinkörper ist die Ansprechbarkeit der Drüse gegenüber dem Thyreotropin dosisabhängig herabgesetzt bis ganz aufgehoben. Injektionen lassen jede nachfolgende Morphokinese im Sinne einer Aktivierung vermissen. Daraus muß geschlossen werden, daß die Phenothiazine direkt an der Zelle angreifen und die Zellen der Schilddrüse direkt lähmen und nicht etwa über eine

Bremsung des Zwischenhirn-Hypophysen-Systems eine Inaktivierung der Drüse bewirken. Eine Inaktivierung der Drüse ist in jedem Falle mit der Bildung einer Stapeldrüse verbunden, eine gelähmte Schilddrüse kann indessen jedes morphologische Zustandsbild aufweisen, je nach dem Zustand, den die Drüse zur Zeit des Beginns der Lähmung darbot. Eine Inaktivierung ist zwischenhirnabhängig und daher substituierbar, eine Lähmung auf einer Zellschädigung direkt beruhend dagegen nicht. Ein weiterer Beweis liegt in der experimentellen Umwandlung der normalen Drüse in eine Stapeldrüse durch Zufuhr von Thyroxin (Kuschinsky 1933; Kleinrensing 1953). Über eine infolge Substituierung der peripheren Drüse erfolgte Zwischenhirn-Hypophysen-Bremsung kommt es zur Bildung einer Stapeldrüse. Unter Einwirkung der Phenothiazinkörper vermag eine Thyroxingabe keine Umbildungsvorgänge in der Drüse zu erzeugen, die auf einen ähnlichen Mechanismus schließen lassen. Würden das Megaphen und seine Verwandten das Zwischenhirn und die Hypophyse gezielt ausschalten, dann müßten sich Megaphen und Thyroxin in diesem Wirkungsmechanismus addieren, wenn nicht gar potenzieren. Das Strukturbild der Drüse bleibt aber völlig unverändert (Filk u. Mitarb. 1954), es treten keinerlei Transformationen auf. Ebenso bleibt nach Thyroxininjektionen der Temperaturverlauf wie bei den reinen Megaphentieren unverändert.

Aus diesen Überlegungen ergibt sich zwanglos, daß der Wirkungsmechanismus nicht auf einer gezielten funktionellen Ausschaltung des Zwischenhirns beruht, sondern daß das Megaphen an jeder Zelle angreift, indem es hier den Stoffwechsel senkt und die Zelle wahrscheinlich fermentativ blockiert. Orientierende Untersuchungen in dieser Richtung sprechen dafür (Schaumkell 1954). Offenbar fallen aber verschiedene Organe und Zellgruppen zeitlich früher oder später aus und offenbar ist das Zwischenhorn besonders empfindlich und damit der Wirkungsmechanismus eine Dosisfrage wie die Zufallsbefunde der über 210 g schweren Tiere zeigen. Hier kam es zu einer Senkung der Körpertemperatur und einer erhaltenen Reagibilität der Schilddrüse gegenüber dem Thyreotropin. Daß der Tod dieser Tiere eintritt, sobald sie bei einer Kerntemperatur von 32° C exogen weiter unterkühlt wurden, spricht für eine Dysregulation der Stoffwechselvorgänge im Sinne einer Unterbrechung der Reaktionskette. Nur in diesem (therapeutisch unbrauchbaren) Stadium handelt es sich um eine funktionelle Ausschaltung des Zwischenhirns und der Hypophyse. Während die Peripherie noch funktionell intakt ist, ist das koordinierende Zentrum ausgefallen und die Regulationen verlaufen unkontrolliert: Der Zusammenbruch erfolgt sofort.

Unter diesem Gesichtspunkt sind offenbar auch die Ermahnungen im klinischen Schrifttum zu verstehen (Ratschow 1953), mit einer zusätzlichen Unterkühlung

oder anderen „Aggressionen" erst zu beginnen, wenn gewisse Reaktionen (z. B. Frösteln) verklungen sind, da sich sonst ernste Zwischenfälle ergeben können, wie sie auch aus Tierversuchen bekannt sind. Die anfängliche geringe Temperatursenkung ist offenbar nur durch eine Lähmung des Wärmezentrums bedingt (Hess) und erst später kommt es zu einem Temperaturabfall durch verminderte Wärmeproduktion infolge von Stoffwechseldepression. Jedenfalls gibt es einen wenn auch passageren Zustand des Ausfalles der reinen Zwischenhirnfunktion bei erhaltener peripherer Reagibilität.

Die durch Megaphen hervorgerufene Stoffwechseldepression (Filk u. Mitarb. 1953) ist somit bedingt durch eine direkte Einwirkung auf die Zelle. Alle Zellen werden betroffen, nur in verschiedener Reihenfolge bei verschiedener Dosierung, aber ohne jede Priorität. Auch die Zellen des Zwischenhirns werden erfaßt wie jede Körperzelle, denn sonst müßte deren hormoneller Ausfall substituierbar sein. Nur so ist die Erstarrung der Schilddrüse in ihrem morphokinetischen momentanen Zustandsbild zu verstehen. Auch nach Gaben der verschiedenen Hormone ist die Schilddrüse nicht inaktiviert, sondern fermentativ gelähmt, zu jeder sekretorischen Leistung und auch Transformation unfähig. Das erklärt zugleich auch die Befunde von Filk u. Mitarb., die bei Megaphenverabreichung eine Veränderung vermissen, wie man sie nach Verabreichung von SH-Gruppen-haltigen Substanzen wie Methylthiourazil findet. Diese Autoren gehen offenbar von der Vorstellung aus, daß jede medikamentös in ihrer Leistung gedrosselte Schilddrüse den Bau einer derartig proliferierten Drüse aufweisen muß wie die mit SH-Gruppen enthaltenden Substanzen behandelten Organe (Scharf u. Mitarb. 1954a, b, c). Vielmehr hat das Megaphen keinerlei Einfluß auf das Strukturbild der Drüse und auf deren Gewicht. Klinische Erfahrungen mit dem Cytochrom c (Feinen 1954) bei der Beendigung einer durch Phenothiazinderivate erzeugten Hypothermie sprechen ebenfalls für einen Eingriff in das intermediäre Stoffwechselgeschehen. Wie weit es sich hier um eine Substitution handelt, kann erst nach Beendigung noch nicht abgeschlossener Untersuchungen über die Fermentaktivität unter Megapheneinfluß gesagt werden.

Jedenfalls wird aus den bislang vorliegenden Befunden unter Berücksichtigung der Verhältnisse beim natürlichen Winterschlaf klar, daß es sich ebensowenig um eine Übertragung von Naturvorgängen (Puder u. Wolf 1954) in die Klinik handelt, wie um eine Ausschaltung phylogenetisch jüngerer und höher differenzierter Regulationsmechanismen (Schäfer 1953), sondern um eine medikamentöse Lähmung der Zelle.

Es soll noch bemerkt werden, daß „der" Winterschlaf niederer Säuger durchaus nichts Einheitliches ist (Azzali 1954), sondern, daß sich die verschiedenen Species recht unterschiedlich verhalten. So schalten z. B. einige Arten unterhalb einer artspezifisch verschiedenen Umgebungstemperatur (Igel ± 15—17° C) die

Wärmeregulation ab. Die Tiere verhalten sich dann wie Poikilotherme, d. h. sie nehmen annähernd Umgebungstemperatur an. Unterhalb einer kritischen Temperatur (Minimaltemperatur, Igel + 6° C) setzt die Wärmeregulation wieder schwach ein, so daß das Tier diese Temperatur beibehalten kann. In diesem Stadium könnte man den Winterschläfer als homoiothermes Tier mit niederer Temperatureinstellung bezeichnen. Andere Arten schalten bei Erreichen der kritischen Temperatur (Minimaltemperatur) die Wärmeregulation voll ein und erwachen (Herter 1947; Kayser 1950a, b, c; Eisentraut 1953), dabei nehmen sie ihre Normaltemperatur wieder ein. Beide Mechanismen verhindern den Kältetod. Noch anders verhalten sich die Fledermäuse: Sie schalten die Temperaturregulierung völlig aus, so daß sie bei entsprechender Umgebungstemperatur bis unter den Gefrierpunkt des Blutes abkühlen (— 5° C) (Eisentraut 1953; Herter 1947). Ein weiteres Absinken der Umgebungstemperatur führt zum Erstarrungstod. Allerdings zeigen die Fledermäuse auch im Sommer keine konstante Temperatur, sie stehen offenbar an der Grenze zwischen den Poikilothermen und den Homoiothermen.

Unter Megapheneinwirkung tritt bei Abkühlung unter eine kritische Temperatur (Minimaltemperatur) der Tod ein. Nicht mit Megaphen behandelte Tiere sterben bei Abkühlung auf der gleichen Stufe (Kayser 1953).

Die Tatsache, daß es bei Abkühlung auf eine untere kritische Temperatur (Minimaltemperatur) (Eisentraut 1953; Kayser 1950a, b, c; Herter 1947) bei Winterschläfern wieder zu einer Aktivierung des Stoffwechsels kommt, kenntlich an der morphologischen Aktivierung der Schilddrüse, dem gesteigerten O_2-Verbrauch und dem veränderten Atmungsquotienten (Kayser) sowie der Einstellung auf eine konstante Temperatur (Igel 6° C, Ziesel 15° C), spricht für eine *gesteuerte Minderleistung des diencephal-hypophysären Systems* dieser Tiere bei voller Reagibilität und erhaltener Reizbarkeit, die Prämissen der lebenden Substanz sind. Unter Megapheneinwirkung ist die Reizbarkeit des diencephal-hypophysären Systems aber auch (bei entsprechender Dosierung) jeder anderen Zelle nicht gesteuert vermindert, sondern es ist zu einer medikamentösen Lähmung auf dem Boden einer Intoxikation gekommen, bei der tiefe Temperaturen (Minimaltemperaturen) wie auch jede andere lebensbedrohende Belastung nicht mehr als Reiz empfunden werden und demzufolge keine Stabilisierung auf tieferer Stufe eintritt, wie Schäfer sowie Puder u. Wolf es meinen. Vielmehr handelt es sich um eine gleitende Anpassung an die Umgebung, bei der das Unterschreiten des Lebensminimums nicht registriert wird und demzufolge wegen des Ausbleibens der nötigen Gegenregulationen der Tod eintritt. Der unter Phenothiazineinwirkung stehende Organismus ist seiner Umgebung hilflos preisgegeben, weil er jede Reizbarkeit verloren hat. Er stirbt bei Unterschreiten der Minimaltemperatur (Ratte 11—12° C) wie jene Tiere, die nicht mit Megaphen behandelt sind, während es bei echten Winterschläfern zu einer Gegenregulation (nur auf tiefer Stufe) kommt.

Zusammenfassung.

1. Unter Megapheneinwirkung ist bei genügender Dosierung jegliche Morphokinese der Schilddrüse aufgehoben.

2. Megaphen bewirkt nicht die Ausbildung einer Winterschlafschilddrüse.

3. Unter Megapheneinwirkung bleiben injiziertes Thyreotropin und Thyroxin ohne die sonst unter normalen Bedingungen zu erwartenden Folgen.

4. Das Megaphen ist offenbar ein allgemeines Zellgift, das in therapeutisch brauchbaren Dosen an *allen* Zellen ohne Priorität oder Überordnung einer Zellgruppe oder eines Organs angreift.

5. Die Zwischenhirnzellen scheinen allerdings eine höhere Empfindlichkeit aufzuweisen als andere Körperzellen. Jedoch ist das anfänglich durchlaufene Stadium der bevorzugten Zwischenhirnlähmung therapeutisch nicht ausnutzbar, da es nur zu Beginn der Megaphenverabreichung *durchlaufen* wird, ohne daß schon zu diesem Zeitpunkt eine völlige periphere Ruhigstellung bewirkt wird.

6. Der Gewichtsverlust ist offenbar ein Wasserverlust.

Literatur.

Aron, E., Y. Chambon u. A. Voisin: Presse méd. **61**, 1065 (1951). — Azzali, G.: Arch. ital. Anat. e Embriol. **69**, 142 (1954). — Neuroveg. Symposion. Wien 1954. — Bargmann, W.: In: Möllendorffs Handbuch der Mikrosk. Anatomie des Menschen Bd. 6. 2. Teil. Berlin: Springer 1939; Bd. 6, 5. Teil, Berlin: Springer 1954. — Bobbio, A., P. Goffrini et E. Bezzi: Presse méd. **60**, 1708 (1952). — Cahn, J., M. Dubrasquet, G. Georges et R. Pierre: Anesth. et Analg. **10**, 397 (1953); **10**, 80 (1953). — Cahn, J., M. Dubrasquet et G. Georges: Presse méd. **61**, 199 (1953b) — Broglie, M., G. Jörgensen u. G. Voss: Ärztl. Wschr. **1953**, 1148. — Cahn, J., M. Dubrasquet et G. Georges: Presse méd. **61**, 571 (1953). — Ehrenbrand, F.: Anat. Anz. **101**, 41 (1954b). — Med. Inaug. Diss. Mainz 1953. — Z. mikrosk. anat. Forsch. **60**, 337 (1954a). — Eisentraut, M.: Rev. suisse Zool. **60**, 411 (1953). — Eggert, B.: Morphologie und Histophysiologie der normalen Schilddrüse. Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiete der Inneren Sekretion. Bd. 3. Leipzig: Ambrosius Barth 1938. — Eikhoff, W.: Schilddrüse und Basedow. Stuttgart: G. Thieme 1949. — Fanjeaux, G., et J. Soulier: Afrique franç. chir. **57**, 86 (1953). — Feinen, K.: Therapiewoche Karlsruhe 1954, 3. 9. 54. — Feyrter, F.: Über diffuse endokrine Organe. Leipzig: Ambrosius Barth 1938. — Filk, H., K. Ritter, E. Sturmer u. A. Löser: Klin. Wschr. **1954**, 265. — Georges, G., u. J. Cahn: Anesth. et Analg. **10**, 409 (1953). — Goffrini, P., e A. Scorta: Minerva med. (Torino) **1953**, 347. — Grosse-Brockhoff, F.: Pathologische Physiol. Berlin: Springer 1950. — von Hagen, F.: Zool. Jb. 1928. — Hugenard, P.: Acta anaesth. belg. **2**, 716 (1951). — Hugenard, P., et C. Mundeler: Brux. méd. **1953**, 69. — Herter, K.: Vergleichende Physiologie der Tiere 1. Bd. Berlin: W. de Gruyter u. Co. 1947. — Hechter, O.: Rev. canad. de Biol. **12**, 123 (1953). — Irmer, W., u. F. H. Koos: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 361. — Jentzer, A.: Méd. et Hyg. **10**, 192 (1952a). — Ann. d'Endocrin. **13**, 705 (1952b). — Jentzer, A., A. Corboud u. A. Müller: 2. Kongreß der Österr. Ges. F. Anaesthisiologie 17.—19. 5, Velden Wörthersee 1953. — Kayser, Ch. et G. Hiebel: C. r. Soc. Biol. (Paris) **147**, 1626 (1953); **144**, 1697 (1950b). —

Mammalia **14**, 105 (1950a). — Neuroveg. Symposion Wien 1954. — Kayser, Ch.: Arch. Sci. Physiol. **6**, 193 (1952). — Kleinrensing, E.: Med. Inaug. Diss. Mainz 1953. — Kuschinsky, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **170**, 510 (1933). — Laborit, H.: Acta anaesth. belg. **2**, 710 (1951a). — Presse méd. **1952**a, 692; **1952**b, 140. — Méd. et Hyg. **218**, 198 (1952c). — Brux. méd. **33**, 863 (1953a). — Reáktion organique àl'agression et choc. Paris: Masson 1953b. — Laborit, H., P. Hugenard et R. Allaume: Presse méd. **1952**d, 206. — Laborit, H., et P. Hugenard: Presse méd. **1952**e, 1455; **1952**f, 1355. — Laborit, H., R. Favre, J. Dechen et G. Bastit: Presse méd. **1953**, 1249. — Lang, K.: Der intermediäre Stoffwechsel. Berlin: Springer 1953. — Lenarzt, E.: Chemische Physiologie. Berlin: Springer 1952. — Ludwig, K.: Schweiz. Z. allg. Path. **14**, 323 (1951). — Müller, W.: Z. Zellforsch. **37**, 537 (1952). — Okkels, H.: J. of Exper. med. **3**, 279 u. 305 (1937). — Pichotka, J.: Beitr. path. Anat. **113**, 176 (1953). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 299 (1952). — Ratschow, M.: Medizinische (Stuttgart) **1953**, 270. — Reinwein, R.: Krankheiten des Stoffwechsels und der Inneren Sekretion in H. Dennigs Lehrbuch der Inneren Medizin. 1. Bd. Stuttgart: Thieme 1952. — Puder, H., u. G. Wolf: Ther. Gegenw. **1954**, 305. — Schäfer, K.: Medizinische (Stuttgart) **1935**. — Scharf, J.-H.: Verh. anat. Ges. **52**, 1954. — Scharf, J.-H., W. Förster u. E. Muscholl: Naturwissenschaften **41**, 146 (1954). — Scharf, H.-J., u. W. Förster: Z. Zellforsch. **40**, 117 (1954). — Scharf, J.-H., W. Förster, C. Hermann u. F. Ehrenbrand: Naturwissenschaften **41**, 406 (1954). — Scharf, J.-H., F. Ehrenbrand u. W. Förster: Z. Zellforsch. **41**, 132 (1954). — Schaumkell, K. W.: Med. Inaug. Diss. Mainz 1953. — Klin. Wschr. im Druck. — Sunder-Plasmann, P.: Erg. Chir. **33**, 268 (1941). — Dtsch. Z. Chir. **255**, 521 (1942a). — Münch. med. Wschr. **10**, **1942**b, 217. — Klin. Wschr. **1942**c, 469. — Selye, H.: Textbook of Endocrinology 2. Auflage, Montreal. — Second annual Report on Stress Mentreal (1952). — Einführung in die Lehre vom Adaptationssyndrom. Stuttgart: G. Thieme 1953. — Tonutti, E.: Verh. anat. Ges 52. Vers. 1954. — Tonutti, E., F. Bahner u. E. Muschke: Endokrinologie **31**, 266 (1954). — Verzar, F., V. Vidcvic and S. Hajdukovic: J. Clin. Endocr.. — Watzka, M.: Forschgn u. Fortschr. **14**, 1938 S. 2. — Biologe (München) **1941**, 316. — Z. mikrosk.-anat. Forsch. **36**, 67 (1934). **51**, 73 (1942). — Verh. anat. Ges. **50**, 24 (1952). — Wölfler, A.: Über die Entwicklung und den Bau der Schilddrüse mit Rücksicht auf die Entwicklung der Kröpfe. Berlin: G. Reimer 1880.

Dr. Klaus Werner Schaumkell, Anatomisches Institut d. Univ. Mainz.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 402—420 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle).

Serumanaphylaktische Reaktionen am nervenfreien Hühneramnion.

Von

G. Engelhardt und L. Lendle*.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Januar 1955.)

Das Hühneramnion gilt allgemein als nervenfreies Gewebe und hat daher für die Analyse des Angriffspunktes von Pharmaka unter Ausschluß des vegetativen Nervensystems Verwendung gefunden (Langley; Baur; Ferguson; Evans u. Schild; Kuschinsky, Lüllmann u. a.)

Wir versuchten an diesem glattmuskeligen Organ serumanaphylaktische Reaktionen in der Weise zu prüfen, wie es an anderen isolierten glattmuskeligen Organen in der Versuchsanordnung nach Schultz-Dale üblich ist. Wenn solche Reaktionen am Amnion unter geeigneten Bedingungen ausgelöst werden können, dann müßte man daraus folgern, daß sowohl die Bildung wie die Bindung von Antikörpern als auch die Auslösung eines anaphylaktischen Organschocks ohne Mitbeteiligung nervöser Elemente zustande kommen kann. Diese Frage ist heute von Interesse, weil auch im Bereich der Allergie- und Anaphylaxieforschung das Problem einer Beteiligung des Nervensystems im Sinne der Neuralpathologie viel diskutiert wird.

Bei der Durchsicht der Literatur, insbesondere über experimentelle Arbeiten, fanden wir über die Bedeutung des Nervensystems für das Phänomen der Anaphylaxie höchst widerspruchsvolle Angaben (vgl. Einzelheiten bei Engelhardt). Der grundlegenden Auffassung Doerrs von einer Reizwirkung des Antigens auf das Endothel für die Auslösung einer Antikörperbildung wurden vorwiegend Bogendörfers Beobachtungen, daß am halsmarkdurchschnittenen Hund eine Antikörperbildung unterbleibt, entgegengestellt. Kalbfleisch, der sich von pathologisch-anatomischer Seite für diese Fragen interessierte, nahm einen primären Angriff des Antigens am Nervengewebe an. Neben solchen Bemühungen, die Bedeutung des Nervensystems für die Antikörperbildung nachzuweisen, fand die Frage nach der Bindung von Antikörpern in Abhängigkeit vom Nervensystem weniger Beachtung. Insbesondere wurde das damals schon viel diskutierte Terminalreticulum des peripheren vegetativen Nervensystems nicht in solche Hypothesen einbezogen.

Daß das vegetative Nervensystem für den Ablauf der komplexen Vorgänge beim anaphylaktischen Schock eine Rolle spielen kann, dürfte aber nicht so wichtig sein für das Verständnis des Mechanismus der spezifischen anaphylaktischen

* Herrn Professor Dr. P. Wels, Greifswald, zum 65. Geburtstage gewidmet.

Primärreaktion am isolierten Organ. Die Erweiterung auf das allgemeinere Problem der Allergie hat aber gerade für diese Frage viel klinisches Erfahrungsmaterial beigetragen, um die Abhängigkeit solcher Reaktionen vom Nervensystem zu beweisen.

Nur indirekte Beweise für oder gegen die Bedeutung des vegetativen Nervensystems bei allergischen Reaktionen liefern auch neueste pharmakologische Untersuchungen. STORK konnte am Meerschweinchen mit hohen Dosen von Ganglienblockern eine ekzematöse Sensibilisierung verhindern. SCHMIDT ermittelte dagegen am isolierten Darm sensibilisierter Meerschweinchen nach antagonistischer Behandlung mit verschiedenen Giften des vegetativen Nervensystems auch im Gegensatz zu NAKAMURA u. TAKAHASHI, daß der Sitz der anaphylaktischen Primärreaktion wohl nicht das Terminalreticulum des vegetativen Nervensystems ist.

Es gibt aus den letzten Jahren einige, allerdings von den Verfechtern neuralpathologischer Anschauungen in der Allergielehre nur wenig beachtete Arbeiten, die den direkten Beweis zu erbringen versuchen, daß das vegetative Nervensystem keine Bedeutung für die Auslösung und den Ablauf der anaphylaktischen Reaktionen besitzt. So konnten SEASTONE u. ROSENBLUETH im anaphylaktischen Schock der Katze auch noch an der denervierten Nickhaut Kontraktionen erzeugen. Ebenso konnten LISSAK u. HODES nach vollständiger Sympathektomie typische anaphylaktische Organreaktionen der Katzennickhaut beobachten. BENDER arbeitete an einer völlig parasympathisch denervierten Iris verschiedener Species und konnte trotzdem im anaphylaktischen Schock des Tieres die gleichen typischen Kontraktionen der Iris feststellen. Auch hier bleibt als Erklärung nur eine direkte Reizung des Erfolgsorgans.

Unsere Versuche sollten nun unter einfachen Versuchsbedingungen an einem Organ, welches nicht durch Denervierung in einen pathophysiologischen Zustand gebracht ist, sondern schon physiologisch nervenfrei ist, vorgenommen werden.

Voraussetzung für unsere Versuche der Sensibilisierung des Hühneramnions war die von WITEBSKY u. SZEPSENWOOL, WITTICH und in neuerer Zeit von JENSEN u. WORATZ bestätigte Tatsache, daß das embryonale Gewebe von Vögeln überhaupt Immunitätsvorgänge zeigt. Für den Säugerembryo wird die Fähigkeit zur Antikörperbildung bestritten (WIENER, BURNET u. FERNER).

I. Allgemeine Methodik[1].

1. Versuchsobjekt. Die Histologie des Hühneramnions wurde erst kürzlich mit modernen Methoden von BAUTZMANN gründlich untersucht.

In der Muskelschicht des Amnions findet sich ein ganz bestimmtes Schema der Anordnung der glatten Muskelzellen, das im Laufe der Entwicklung erst deutlich ausdifferenziert wird. Bereits am 5. Tage der Entwicklung des Amnions kann man in seinem dorsalen Teil doppelschichtige, durch Verwachsung von Myocyten entstandene „Muskelsterne" erkennen, die sich in den folgenden Tagen noch vermehren und miteinander Verbindungen eingehen, so daß schließlich hier, dem Rücken des Embryos gegenüberliegend, ein Gefüge von „Verbindungszügen" und „sternigem Raffungszentrum" entsteht. BAUTZMANN nimmt an, daß dieser Teil des Amnions mit seiner eigenartigen Architektonik der Regulation des Amniontonus

[1] Ausführliche Einzelheiten vgl. bei ENGELHARDT.

dient. Der übrige Teil des Amnions besitzt eine vornehmlich in einer einzigen Richtung sich erstreckende Muskelzellenanordnung. Auf der ventralen Seite um den Nabel herum liegt ein sphincterartiger Muskelring, von dem radiale Muskelzüge entspringen, die nur spitzwinklig miteinander Verbindungen eingehen und mit den oben beschriebenen dorsal gelegenen „Stern"-Partien Verbindungen aufnehmen.

Noch in letzter Zeit wurden wieder Stimmen laut, die die Nervenfreiheit des Vogelamnions in Zweifel stellten. Der Nachweis von nervenähnlichen Strukturen ist jedoch keinem dieser Autoren gelungen. Wenn man sich einer teleologischen Betrachtungsweise bedient, die natürlich niemals den Wert objektiver Untersuchungen erlangen kann, dann könnte man auch die Nervenfreiheit postulieren. Wieweit sollte denn die Nervenversorgung eines Organs sinnvoll sein, wenn dies doch nur eine vorübergehende Funktion erfüllt und wenn die histologischen Untersuchungen bezeugen, daß es schon vom 13. Entwicklungstage ab der bindegewebigen Umwandlung unterliegt.

Bautzmann spricht sich jedenfalls auf Grund seiner umfangreichen Studien — bei denen er sich der modernen Versilberungsmethoden bediente — auch für die Nervenfreiheit dieses embryonalen Anhangsgebildes aus, wie alle übrigen Autoren, die vor ihm mit teilweise einfacheren Methoden die Histologie dieses Organs studiert hatten (Verzár, Stoehr und Peterfi).

Die Nervenfreiheit des Amnions kann erst dann mit Recht angezweifelt werden, wenn man die Gewinnung eines Organpräparates in dem Entwicklungsstadium versucht, in dem es bereits zu bindegewebigen Verwachsungen des Amnions mit der Allantois und der Serosa gekommen ist. Dann ist eine saubere Trennung von jenen sicherlich teilweise nervenführenden Geweben technisch nicht mehr durchführbar.

Eine ausführliche Darstellung der Physiologie des Amnions gab M. E. Pierce. Etwa vom 5. Bebrütungstage ab ist eine rhythmische peristaltische Tätigkeit des Amnions zu beobachten, die bis zum 9. Entwicklungstage an Intensität und Frequenz zunimmt, um dann in der weiteren Entwicklung schwächer und unregelmäßiger zu werden. Bei 14 Tage alten Eiern ist sie meist schon völlig verschwunden. Träger dieser peristaltischen Tätigkeit, die um den 9. Bebrütungstag am deutlichsten erkennbar ist und eine Frequenz von 16 pro Minute zeigt, ist die radiär vom Nabel entspringende straff ausgerichtete Muskelzellmasse.

2. Gewinnung des Präparates. Zur Bebrütung wurden nur frische, im Höchstfalle 3 Tage alte Eier der New-Hampshire-Rasse verwendet. Wir improvisierten aus einem Thermostaten eine Bruteinrichtung, in welcher konstante Temperaturbedingungen und unter Kontrolle mit einem Haarhygrometer auch die Einregulierung der Luftfeuchtigkeit auf das für die verschiedenen Bebrütungsstadien erforderliche Niveau gewährleistet war. Die Entwicklung der Eier wurde mit besonderer Durchleuchtungstechnik ständig überwacht.

Unsere Präparationstechnik verwertet die Erfahrungen Baurs, weicht aber in einigen Punkten erheblich von der von ihm entwickelten ab.

Zur Freilegung des den Embryo enthaltenden Amnionballons wird die Serosa, die diesen wie eine über Embryo, Allantois und Dottersack gestülpte Glocke umgibt, an ihrem kaum gefäßführenden Rande mit einer Venenschere eingeschnitten und von dem Dottersack abgetrennt, dann werden durch fortschreitende stumpfe Ablösung Serosa und Allantois gemeinsam vom Dottersack und Amnion abgeschoben, so daß danach das Amnion mit seinem Inhalt, dem Embryo, unter der

Serosa-Allantoisplatte hervorluxiert werden kann. Nun wird die Nabelschnur angeschlungen und distal von dieser Anschlingstelle durchtrennt.

Alle Präparationsvorgänge erfolgen im Tyrodebad von 39° C. Eine Sauerstoffdurchperlung ist erst möglich, nachdem durch wiederholten Wechsel der Badflüssigkeit die störende Eiweißschaumbildung vermindert worden ist. Nun wird das Amnion in seiner dorsalen Partie, dem Gebiet der Muskelsterne, durch einen der Wirbelsäule des Embryos parallel laufenden, genau in der Mitte liegenden schlitzförmigen Einschnitt von etwa 8 mm Länge eröffnet. Durch diesen Schlitz wird zunächst der Kopf des Embryos hindurchluxiert und dann das Amnion über den Körper und die unteren Extremitäten des Embryos hinweggestreift. Infolge der Durchschneidung der Nabelschnur kann jetzt der Embryo von dem Präparat getrennt werden. Durch Zug an dem Anschlingfaden kann man das Amnion unter Wasser über den Nabelschnurrest zurückflottieren lassen. An dem freien, dem vorher gesetzten Schlitz entsprechenden Ende wird es nun ebenfalls angeschlungen, durch vorsichtigen Zug an beiden Fäden ganz schwach ausgespannt, proximal vom Nabelschnurrest erneut abgebunden und der an dem ersten Anschlingfaden hängende Nabelschnurrest abgeschnitten.

Die Länge der Präparate, zwischen den beiden Anschlingungen gemessen, schwankte je nach dem Alter des Amnions zwischen 15 und 23 mm. Ein Zusammendrehen des Präparates, wie es von Baur beschrieben wurde, hat sich nach unseren Erfahrungen als unzweckmäßig erwiesen.

3. Registrierung der Automatie. Das Amnion wurde in der Art des Magnus-Darmpräparates verwendet. Das Badgefäß enthielt 35 cm^3 Tyrodelösung und war im oberen Abschnitt weithalsiger, da das nahezu schwerelos aufgehängte Präparat bei der erforderlichen O_2- oder Luftdurchperlung sonst leicht am Gefäßrand anhaften konnte. Die Kontraktionen des Amnionpräparates wurden mittels eines Tangentialschreibers an einem Rußkymo aufgezeichnet. Wir verwendeten dabei eine dünne, aber großflockige Berußung, bei der die Rußfläche leichter abgekratzt werden kann (Berußung im Flammenkern).

Die technischen Daten des verwendeten Hebels waren folgende: Gesamte bewegte Masse bei voller Auslastung durch Ausgleichsgewichte weniger als 250 mg. Schreibarmlänge 203 mm, Zugarmlänge 16,5 mm, Armlänge für Ausgleichsgewichte 49 mm. Für die Registrierung ergab sich ein Übersetzungsverhältnis 1 : 12,3.

Die effektive Gesamtbelastung der Präparate im Versuch wurde mit Hilfe einer Torsionswaage direkt als Fadenzug gemessen und betrug bei jungen Präparaten vom 8. und 9. Tage 38 mg, bei mittelstarken Präparaten (gewöhnlich 10. und 11. Tag) 75 mg, und bei den älteren kräftigen Präparaten 132 mg. Diese Gesamtbelastung war in der Regel gleichbedeutend mit einer Entlastung bis zu nicht mehr erfolgender Dehnung.

II. Reaktionsbedingungen des Amnionpräparates.

Über die allgemeinen Erfahrungen an etwa 100 Präparaten und über die speziellen pharmakologischen Reaktionen, die im Laufe unserer Untersuchung zum Vergleich mit den serumanaphylaktischen Reaktionen geprüft wurden, seien hier nur die für eine Beurteilung der späteren Versuchsergebnisse wesentlichen erwähnt (ausführliche Einzelheiten vgl. bei Engelhardt).

In nicht allen Fällen gelang es uns, das Präparat zur spontanen Automatie zu bringen. Einige Präparate zeigten erst, nachdem sie einmal durch ein Pharmakon erregt worden waren, eine spontane Rhythmik. Andererseits konnten wir bisweilen auch bei 13 Tage alten Präparaten eine kräftige spontane Rhythmik registrieren.

Beim Wechsel der Tyrodelösung, wie es zur Giftauswaschung notwendig ist, fanden wir regelmäßig bei gut ansprechenden Präparaten eine kräftige

„Nacherregungsphase", die bis zu 3 min dauern konnte und bei der Testung von Pharmaka oder antigenen Stoffen dazu zwang, nach der letzten Spülung bei stehendem Kymo eine Sicherheitspause von 4 min einzuhalten, um Fehldeutungen der erzielten Effekte zu vermeiden.

Bei Temperaturen unter 36° C ist die Peristaltik des Amnions sehr unregelmäßig und träge. Die optimale Temperatur liegt wohl bei 38,5—39° C. Bei Badtemperaturen über 40° C wird die Peristaltik, die anfangs sehr heftig ist, sehr bald unregelmäßig und erschöpft sich innerhalb von etwa 20 min völlig. Bei einer Temperatur von 38,8° C und gleichbleibender O_2-Versorgung gelang es uns, Präparate über 3½ Std überlebend und gut reaktionsfähig zu erhalten.

Echte einfache Tonuswirkungen ohne Erregung zu einer rhythmischen Tätigkeit, wie sie für die Dünndarmpräparate von Meerschweinchen geradezu typisch sind, kann man an dem Amnion überhaupt nicht erhalten[1]. Die physiologische Tätigkeitsäußerung der Amnionmuskulatur ist die koordinierte mehr oder weniger schnell einander folgende Einzelkontraktion, nicht eine sich in der Registrierung als Tonusanstieg äußernde Dauerkontraktur. Diese Tatsache muß bei der Beurteilung der anaphylaktischen Reaktionen am Amnion berücksichtigt werden.

Die Empfindlichkeit des Präparates bleibt, wenn man es etwa 20 min, bevor man es in den Versuch nimmt, vorsichtig belastet, aber sonst unbeeinflußt sich in dem Bad an die Versuchsbedingungen gewöhnen läßt, in den ersten 60 min für die meisten Pharmaka nahezu konstant. Die Empfindlichkeit nimmt erst dann für alle Pharmaka gleichmäßig ab. Die spontane Rhythmik auch der jungen Präparate vom 8.—10. Tage ging unter den in unserer Versuchsanordnung vorliegenden Bedingungen nach etwa 40—60 min in der Mehrzahl verloren; in diesem Zustande sprachen die Präparate aber noch unvermindert auf erregende Stoffe an, d. h. sie zeigten dann auf die Applikation dieser Stoffe hin je nach deren Konzentration eine mehr oder minder frequente Rhythmik. Dieses Stadium der gerade verloren gegangenen Automatie haben wir mit Vorliebe zu pharmakologischen Testungen erregender Stoffe benutzt, da an diesen untätigen Präparaten eine quantitative Auswertung der Reaktionen wegen ihrer Übersichtlichkeit viel leichter ist.

III. Pharmakologische Wirkungen.

Die allgemeine Empfindlichkeit des Amnions gegen Pharmaka ist, verglichen mit derjenigen des isolierten Darmpräparates, geringer. Im Rahmen der am Amnion wirksamen Konzentrationen war die Stärke der Reaktion jeweils eine direkte Funktion der angewendeten Konzentration, so daß man zu diesem Präparat ohne Schwierigkeiten quantitative Wirkungsbedingungen prüfen kann.

Histamin wirkte am ruhenden Präparat automatieauslösend oder am tätigen Präparat frequenzerhöhend in Konzentrationen von $3 \cdot 10^{-8}$ bis $1{,}4 \cdot 10^{-7}$. Die untere Grenze genügte für 9 Tage alte Präparate und die obere für die 10—13 Tage alten. Vgl. Einzelreaktionen in den Abbildungen (3, 4 u. a.).

[1] Wenn wir auf mäßige Reizungen hin kaum jemals echte Tonuswirkungen sahen, so mag dies wohl mit unserer besonderen Präparationstechnik zusammenhängen, bei der ein großer Teil der dorsalen Muskelsterngebiete nicht mit in das Präparat eingeschaltet wurde, welche von Bautzmann besonders für den Tonus verantwortlich gemacht werden.

Die durch die Grenzkonzentrationen von Histamin hervorgerufene Rhythmik glich in Frequenz und Größe der Amplitude weitgehend der spontanen Rhythmik. Wurde die Konzentration verdoppelt, so war zunächst nur eine Zunahme von Frequenz und Amplitude zu registrieren. Die Verwendung der 3—4fachen Grenzkonzentration hatte dagegen so starke Erregungen zur Folge, daß jetzt eine zusätzliche „Tonuswirkung" herauskam, bei der es infolge der schnellen Kontraktionsrhythmik nicht mehr zur völligen Erschlaffung kam. Die Kurve zeigte eine Hebung der Fußpunkte. Diesen Effekt konnten wir mit Konzentrationen von $2—3 \cdot 10^{-7}$ auslösen.

Doryl (Carbaminoylcholinchlorid) unterschied sich in seinem Wirkungsbild kaum von Histamin. Die anregenden Grenzkonzentrationen für das ruhende Präparat oder für die Frequenzsteigerung lagen bei $5 \cdot 10^{-8}$ bis $1{,}4 \cdot 10^{-7}$. Für die 9 Tage alten Präparate genügten $5—6 \cdot 10^{-8}$.

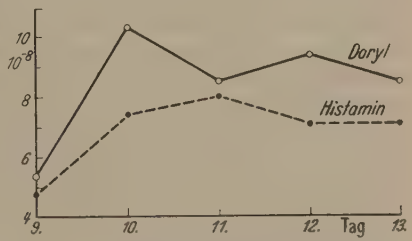


Abb. 1. Änderung der Empfindlichkeit des Amnions gegenüber erregenden Pharmaka mit dem Bebrütungsalter. Abszisse: Bebrütungstage. Ordinate: Eben wirksame Endkonzentration der getesteten Stoffe im Bad. Die einzelnen Kurvenpunkte stellen das arithmetische Mittel aus 11 Grenzdosenbestimmungen dar.

Die Empfindlichkeitsänderungen der Präparate in Abhängigkeit von der jeweiligen Entwicklungsstufe wurden für diese beiden Pharmaka verfolgt, indem für jedes Bebrütungsalter die Durchschnittswerte aus 11 Grenzdosenbestimmungen berechnet wurden. Das Ergebnis wurde in Abb. 1 graphisch dargestellt. Die Empfindlichkeit zeigt für beide Stoffe ein ziemlich paralleles Verhalten.

Bariumchlorid wirkte ab $1{,}4—3 \cdot 10^{-5}$ erregend. Die Reaktion war hier meist schon so stark, daß im Kurvenbild die Fußpunkte der Einzelkontraktionen gehoben blieben. Ferner bestand eine Abweichung gegenüber Histamin und Doryl darin, daß auch mit dem Vielfachen der Grenzkontraktion keine „Tonuserhöhung bis zur Kontraktur" erfolgte. Es blieb immer eine rhythmische Tätigkeit von hoher Frequenz erhalten.

Über pharmakologische Reaktionen von Nicotin, Adrenalin, Atropin, Novocain, Antihistaminika und Ganglienblockern vgl. bei Engelhardt.

IV. Serumanaphylaktische Reaktionen.

Die Vogelanaphylaxie ist naturgemäß nicht so eingehend untersucht wie die Serumanaphylaxie beim Meerschweinchen oder anderen Säugetieren. Von Friedberger und Uhlenhuth wurden wohl die ersten Untersuchungen über die Anaphylaxie bei Vögeln durchgeführt. Offensichtlich sind Vögel dafür weniger geeignet. Auch das Versagen der passiven Immunisierung von Meerschweinchen mit Vogelseren war

bereits Uhlenhuth aufgefallen. Aus der neueren Literatur seien nur einige Beispiele genannt.

Sherwood u. Downs gelang es, bei Benutzung des Taubenherzens als Testorgan nur in etwa 30% der Fälle eine *passive* Taubenanaphylaxie nachzuweisen. Sie verwendeten Hühnerseren zur passiven Präparierung. Mit hochgetiterten Immunseren von Kaninchen gelang diese passive Sensibilisierung nicht.

Etwa zur gleichen Zeit untersuchte Sherwood das isolierte junge embryonale Kükenherz, das noch unter keiner Beeinflussung durch das Nervensystem stand, auf seine Fähigkeit zur passiven und inversen Anaphylaxie. Die passive Sensibilisierung gelang in einem gewissen Prozentsatz nach einer Inkubationszeit von 2 bis 4 Std, wenn hierzu Immunseren vom Huhn in geeigneter Konzentration zur Verwendung kamen. Auch die inverse Anaphylaxie gelang nach einstündigem Kontakt des Antigens mit dem Embryoherzen. Die anaphylaktischen Reaktionen am Embryoherzen entsprachen völlig denen, die am Taubenherzen beobachtet worden waren. Mit Hilfe von hochgetiterten Immunseren von Kaninchen war aber am embryonalen Hühnerherzen keine passive Sensibilisierung möglich.

Wittich konnte von einer aktiven Sensibilisierung des 3—4 Tage alten Hühnerembryos gegen die verschiedensten Antigene berichten. Die Testung auf den Erfolg der Sensibilisierung erfolgte auch bei ihm an dem Embryoherzen, nachdem es ein Alter von 14—18 Tagen erreicht hatte. In etwa einem Drittel der Fälle konnte er deutliche anaphylaktische Erscheinungen der Herzen registrieren, die im wesentlichen den Erscheinungen an dem ausgewachsenen Taubenherzen entsprachen. Aber auch hierbei waren die Ergebnisse nicht im entferntesten so zuverlässig und frei von völligen Versagern, wie man es von der klassischen Schultz-Daleschen Versuchsanordnung her gewohnt ist.

1. Methodische Voraussetzungen und Versuchsplan. Aus der vorliegenden Literatur über die Vogelanaphylaxie läßt sich für die Technik der Sensibilisierung des Amnions an direkten Hinweisen so gut wie nichts entnehmen. Für die geplanten Untersuchungen ergaben sich aber nach theoretischen Erwägungen folgende Möglichkeiten und Grenzen.

Die saubere Präparation des Amnions sowie die gute Ansprechbarkeit seiner glatten Muskelfaserbündel ist nur etwa bis zum 13., höchstens 14. Bebrütungstage gegeben, weil das Amnion später Verwachsungen mit der Allantois eingeht. Die Antigenverabfolgung wird vor dem 2.—3. Bebrütungstage völlig zwecklos sein, da es doch wohl das Gefäßsystem, speziell das Endothel ist, welches auf den Reiz des Antigens reagieren soll. Das Gefäßsystem ist aber erst zu diesem Zeitpunkt genügend differenziert. Außerdem findet eine Stoffaufnahme durch den Keimling in faßbaren Mengen vorher kaum statt. Es bleibt also bestenfalls für die *aktive Sensibilisierung* eine Inkubationszeit von 9—10 Tagen, die nach den Erfahrungen der oben zitierten Autoren als kaum ausreichend bezeichnet werden muß. Die Wahrscheinlichkeit, eine ausreichende aktive Sensibilisierung des Amnions erreichen zu können, ist somit von vornherein als nicht sehr groß anzusehen.

Mehr Aussichten auf Erfolg bieten vielleicht Versuche der *passiven Sensibilisierung*.

Hierfür gibt es theoretisch eine Reihe von Wegen. Zunächst könnte man die Eier aktiv präparierter Hennen, die in dem Zeitraum, in dem die Seren dieser Hennen zur passiven Präparierung fähig sind, gelegt wurden, auf die passive Sensibilisierung ihres Embryos überprüfen und so eventuell auch an junge passiv sensibilisierte Amnien gelangen. Dieses Verfahren, für das überhaupt keine Unterlagen in der Literatur zu finden sind, erfordert das Vorhandensein eines größeren aktiv sensibilisierten Hennenmaterials, dessen Eierproduktion getrennt überwacht werden könnte. Derartiges Material stand uns nicht zur Verfügung.

Auf eine einfache Weise ließe sich die von Wittich zur aktiven Sensibilisierung des gesamten Embryos benutzte Methodik auch für die passive Immunisierung des Embryos verwenden. An Stelle des antigenen Serums könnte jetzt die Injektion des antikörperhaltigen Serums in das lebende Ei erfolgen. Die für die Bildung der Antikörper durch den Embryo benötigte Zeit wird eingespart und der Zeitraum von der Injektion bzw. Aufnahme des antikörperhaltigen Serums bis zur Präparation des Amnions steht voll für die Bindung der Antikörper an das Amnion zur Verfügung.

Schließlich wäre in Anlehnung an die Versuche von Sherwood am isolierten embryonalen Kükenherzen der Versuch einer *passiven Sensibilisierung* des isolierten Amnions *in vitro* möglich. Der positive Ausfall dieses Versuches würde beweisen, daß es sich bei der Bindung von Antikörpern an Muskelzellen lediglich um ein physikalisch-chemisches Problem ohne die Mitbeteiligung von Nervenfunktionen handelt. Die Schwierigkeit dieser Versuchsanordnung mußte darin liegen, das isolierte Amnion in der mit dem antikörperhaltigen Serum versetzten Badflüssigkeit hinreichend lange überlebend und reaktionsfähig zu halten und somit für den Bindungsvorgang der Antikörper eine genügend lange Zeit zur Verfügung zu stellen.

2. Aktive Sensibilisierung des Amnions in vivo. Aus der älteren Literatur über die experimentelle Erzeugung von Mißbildungen und Vitalfärbung des wachsenden Vogelkeimlings orientierten wir uns zunächst über die verschiedenen Möglichkeiten einer Verabfolgung von Stoffen an den lebenden Embryo. Bei Hammer fanden sich Angaben über die Resorption von Stoffen, die mit einfacher Technik ins Eiklar injiziert worden waren. — Damit konnte der technisch bedeutend schwierigere Weg einer intravenösen Verabfolgung der Stoffe in eine Dottervene oder aber in die Allantois aufgegeben werden. Mit der Resorption der Nährstoffe dürfte es in den frühen Entwicklungsstadien zu einer parenteralen Aufnahme auch des zu injizierenden Antigens kommen. Dieses Verfahrens hat sich übrigens auch Wittich bei seinen Studien über die Anaphylaxie am embryonalen Hühnerherzen bedient.

Das Bebrütungsalter der Eier betrug in unseren Versuchen bei der Injektion des Antigens 50—96 Std. Zur Injektion gelangte sowohl ein Hammel-Normalserum der Behring-Werke (HSBW), das frisch der Ampulle entnommen worden war, wie auch frisches, im Höchstfall 48 Std altes Hammelserum (FHS), das nach seiner sterilen Gewinnung bei 5° C im Kühlschrank aufbewahrt worden war und vor der Injektion nochmals scharf zentrifugiert wurde. Die Injektion wurde unter aseptischen Kautelen nach Anbohren der Schale (Rosenkopf, 1,5 mm Durchmesser) an dem der Luftblase gegenüberliegenden (äußerlich spitzeren) Eipol vorgenommen.

Durch das Bohrloch hindurch injizierten wir durch eine 20er Injektionsnadel 0,08 bis 0,2 cm³ Serum fächerartig verteilt ins Eiklar. Größere Volumina zu injizieren war nicht ratsam, da sonst eine zweite Anbohrung und das Ablassen von Eiklar zur Vermeidung eines zu hohen Innendruckes notwendig geworden wäre. Beim Herausziehen der Injektionsnadel legte sich die Schalenhaut dichtend vor die Einstichöffnung. Das Bohrloch in der Kalkschale verschlossen wir mit sterilen Leukoplaststreifen. 65% der in Versuch genommenen Eier überstanden diesen Eingriff.

Bevor mit dem Hammelserum die Testung auf seine antigenen Eigenschaften für das Amnion vorgenommen werden konnte, war es notwendig, die Eigenwirkung der verwendeten Seren in der bei der Testung verwendeten Konzentration am nichtvorbehandelten gleichaltrigen Amnion zu prüfen. Eine erregende Wirkung konnten wir für diese Seren in keinem Fall registrieren, vielmehr stellte sich in unseren 29 Kontrollversuchen in den für die Anaphylaxietestung notwendigen Endkonzentrationen nur eine Hemmwirkung ein. Die spontane Rhythmik eines 9 Tage alten Präparates wird durch eine Endkonzentration FHS $1{,}2 \cdot 10^{-3}$ völlig gehemmt (Abb. 2). $1{,}7 \cdot 10^{-3}$ HSBW verzögerte das Eintreten einer Histaminerregung um mehr als 1 min und schwächte sie auch deutlich ab. Die Hemmung der Automatie fanden wir mit gleicher Regelmäßigkeit auch für das zur Kennzeichnung der Spezifität einer fraglichen anaphylaktischen Reaktion mitgetestete Rinderserum. Die Ursache dieser hemmenden Serumwirkung haben wir nicht geklärt. Diese Wirkungen ließen sich schlechter durch Auswaschen beseitigen als die Wirkung zugesetzter Pharmaka. Die Eigenwirkung der Seren lag jedenfalls in anderer Richtung als die anaphylaktischen Reaktionen mit spezifischen Antigenseren am sensibilisierten Präparat.

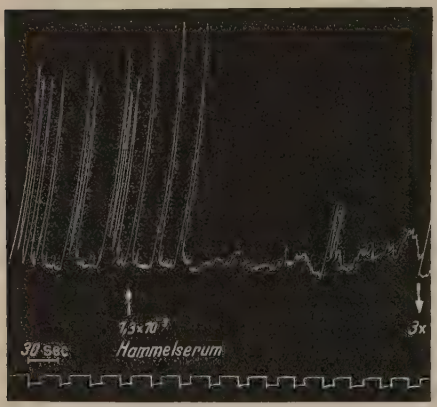


Abb. 2. Hammelserumeigenwirkung. 1,3 · 10⁻³ Hammelserum hemmt die spontane Automatie eines 10 Tage alten Präparates vollständig.

Insgesamt konnten wir an 11 befruchteten und lebenden Eiern eine aktive Sensibilisierung zur Testung in der Versuchsanordnung nach Schultz-Dale bringen. Die einzelnen Daten sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die Präparate sind nach der Länge der Inkubationszeit geordnet.

Die anfänglich verwendeten Konzentrationen von 2,8—$9 \cdot 10^{-4}$ des antigenen Hammelserums zur Auslösung der Antigen-Antikörper-Reaktion zeigten an den Präparaten keine Wirkung. Als die Serumkonzentration

auf $2{,}1 \cdot 10^{-3}$* gesteigert wurde, kam es bei zwei Präparaten, die eine Inkubationszeit von 10 bzw. 11 Tagen hinter sich hatten, noch zu einer deutlichen Erregung nach einer Latenzzeit von knapp 2 min. Wir verwendeten deshalb bei den weiteren Versuchen zur Auslösung des anaphylaktischen Organschocks grundsätzlich nur noch Konzentrationen des antigenen Serums von $2{,}0—2{,}6 \cdot 10^{-3}$. Auf diese Weise

Tabelle 1. *Aktive Sensibilisierung.*

Sensibilisierung					Erfolgstestung			
					1. Reaktion		2. Reaktion	
Präparatbez.	Alter in Tagen	Serum	Menge in cm³	Inkubationszeit i. Tg.	wie Spalte 3 Konzentration	Erfolg	Konzentration des Testserums	Erfolg
49.	10	HSBW	0,25	6	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	∅	$2{,}1 \cdot 10^{-3}$	∅
51.	10	HSBW	0,25	6	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	∅	$1{,}7 \cdot 10^{-3}$	∅
52.	11	HSBW	0,20	7	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	±	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	∅
53.	12	HSBW	0,20	8	$2{,}1 \cdot 10^{-3}$	+	$2{,}1 \cdot 10^{-3}$	±
54.	12	HSBW	0,20	8	$2{,}1 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	∅
55.	13	HSBW	0,20	9	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	∅		
56.	13	HSBW	0,20	9	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	∅
16.	12	FHS	0,18	10	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	∅	$2{,}9 \cdot 10^{-4}$	∅
18.	12	FHS	0,15	10	$5{,}7 \cdot 10^{-4}$	∅	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	+
20.	13	FHS	0,10	11	$1{,}0 \cdot 10^{-3}$	∅	2) $1{,}7 \cdot 10^{-3}$ 3) $2{,}3 \cdot 10^{-3}$	++(+) +++
23.	13	FHS	0,08	11	$1{,}3 \cdot 10^{-3}$	∅		

± = Reaktion zweifelhaft.
\+ = Erregung in Stärke der spontanen Automatie.
++ = Erregung, stärker als Automatie.
+++ = starke Erregung mit Hebung der Fußpunkte der Kurve.

erhielten wir an drei weiteren Präparaten, die mit einer etwas höheren Serumdosis sensibilisiert worden waren, dafür aber nur eine Inkubationszeit von 8 bzw. 9 Tagen hinter sich hatten, 60—90 sec nach der Verabfolgung des Antigens eine deutliche Erregung der nicht mehr spontan tätigen Präparate. Die Spezifität der Reaktionen konnte durch einen positiven „Desensibilisierungstest" und die negativ verlaufene Prüfung von nichtantigenem Rinderserum weiter gesichert werden, obschon die Erregung als solche, die unter der Einwirkung von Hammelserum trotz dessen hemmender Eigenwirkung zustande kommt, auffällig genug ist.

Daß die Präparate 49, 51, 52 keinerlei anaphylaktische Erscheinungen zeigten, ist nicht weiter verwunderlich, da die korrigierte Inkubationszeit von 4 oder 5 Tagen von vornherein als nicht ausreichend angesehen werden muß (nach Hammar verstreichen bei der Injektionstechnik ins Eiklar 2 Tage, bis merkliche Mengen der injizierten Stoffe vom Embryo aufgenommen werden).

* Die gleiche Größenordnung der Konzentrationen verwendete Schmidt zur Auslösung des Organschockes eines Dünndarmsegmentes von einem gegen Hühnereiweiß sensibilisierten Meerschweinchen.

Nicht erklärt bleibt nur noch das Mißlingen der aktiven Sensibilisierung des Präparates 55. Dadurch wird jedoch die Aussage, welche die anderen Präparate erlauben, in ihrer Sicherheit nicht gefährdet. Die Erfolgsquote bei der aktiven Sensibilisierung von Hühnerembryonen, die Wittich am Embryoherzen ertesten konnte, lag auch nur bei etwa 30%.

Unsere Versuche zeigen jedenfalls, daß es grundsätzlich möglich ist, eine aktive Sensibilisierung des Amnions auf dem gewählten Wege zu erzielen (Abb. 3 u. 4).

3. Passive Sensibilisierung des Amnions in vivo. Nach allgemeinen Erfahrungen zeigt das isolierte Organ passiv sensibilisierter Tiere in der Anordnung nach

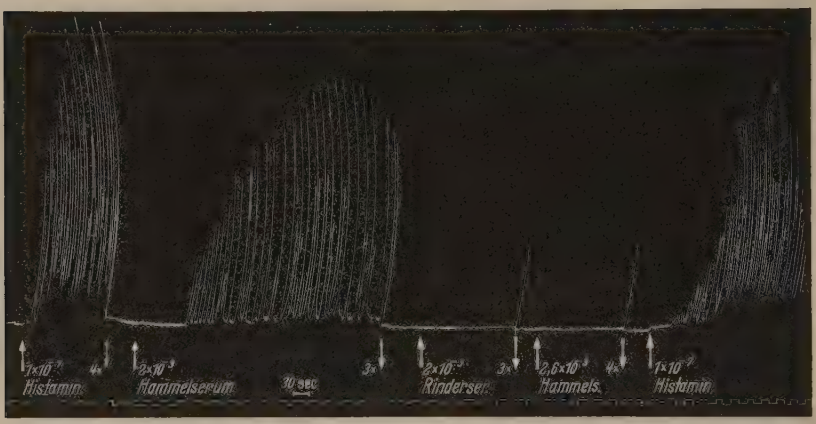


Abb. 3. Präparat 54. Aktive Sensibilisierung im Ei. Inkubationszeit 8 Tage. Testung der Erregbarkeit gegen $1 \cdot 10^{-7}$ Histamin. Zugabe des antigenen Hammelserums in einer Konzentration von $2{,}1 \cdot 10^{-3}$ zeigt eine deutliche Erregung. Nicht antigenes Rinderserum zeigt keine Wirkung. $2{,}6 \cdot 10^{-3}$ Hammelserum wird bei der Zweitzugabe nicht mehr mit Erregung beantwortet (Positiver Desensibilisierungstest!). Erregung durch $1 \cdot 10^{-7}$ Histamin beweist, daß das Präparat an Empfindlichkeit kaum eingebüßt hat.

Schultz-Dale die gleichen Reaktionen bei Zusatz des Antigens, wie das isolierte Organ aktiv präparierter Tiere (Moody). Der Erfolg bei der passiven Sensibilisierung soll sogar gleichmäßiger sein (Walzer u. Grove).

Für die Auslösung eines Organschockes ist es lediglich notwendig, daß eine hinreichende Menge von Antikörpern an diesem Organ sessil geworden ist und auf diese zellständigen Antikörper eine hinreichende Konzentration des spezifischen Antigens trifft. Die Notwendigkeit, eine genügende Menge von Antikörpern dem Embryo in der uns bei unserer Versuchsanordnung zur Verfügung stehenden Zeit einzuverleiben, setzt die Verwendung möglichst stark antikörperhaltiger passiv präparierender Seren voraus. Da bei Verwendung heterologer Seren Inkompatibilitäten zu befürchten sind (Doerr), wählten wir den sichereren, freilich umständlicheren Weg, je ein Huhn und einen Hahn gegen Hammelserum zu präparieren und deren Seren für die Verabfolgung an die Keimlinge zu verwenden. Alle methodischen Einzelheiten (Sensibilierungsschema, sterile Serengewinnung usw.) vgl. bei Engelhardt.

Insgesamt konnten wir 39 Eier, die sich bei der Durchleuchtung als befruchtet und lebend erwiesen hatten, mit verschiedenen Mengen der

passiv präparierenden Seren injizieren und hiervon 24 Amnien wie die aktiv sensibilisierten Präparate in der der SCHULTZ-DALEschen ent-

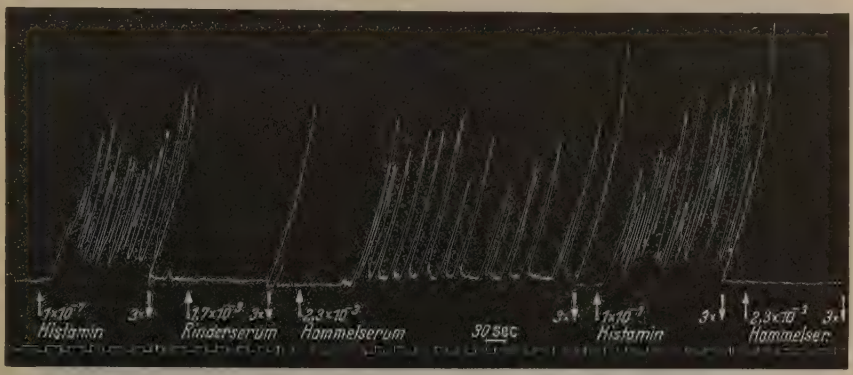


Abb. 4. Präparat 56. Aktive Sensibilisierung im Ei. Inkubationszeit 9 Tage. Testung der Erregbarkeit des untätigen Präparates gegen $1 \cdot 10^{-7}$ Histamin. Nicht antigenes Rinderserum in einer Konzentration von $1{,}7 \cdot 10^{-3}$ zeigt keine Wirkung. Antigenes Hammelserum in einer Konzentration von $2{,}3 \cdot 10^{-3}$ löst rhythmische Tätigkeit aus. Obgleich die Erregbarkeit durch Histamin nicht abgenommen hat, ist durch eine Zweitverabfolgung des antigenen Hammelserums in einer Endkonzentration von $2{,}3 \cdot 10^{-3}$ keine erneute Erregung auszulösen (Positiver Desensibilisierungstest!).

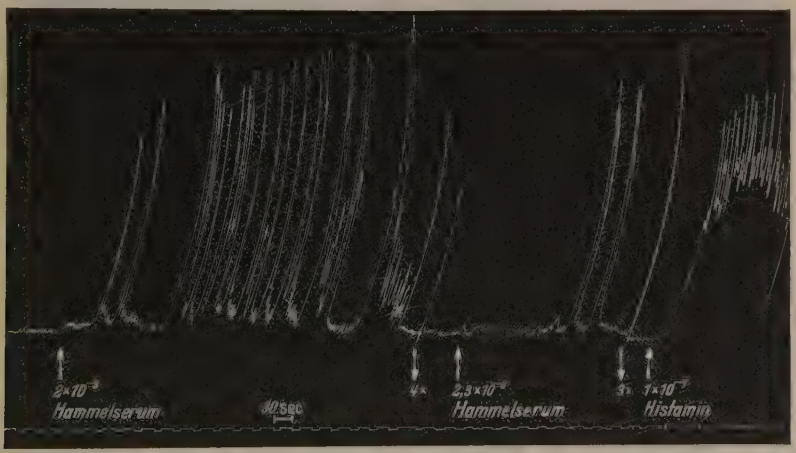


Abb. 5. Präparat 83. Passive Sensibilisierung im Ei. Inkubationszeit 7 Tage. Untätiges Präparat. Das antigene Hammelserum löst in einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ unregelmäßige Erregung aus. Bei Zweitzugabe des Hammelserums ($2 \cdot 10^{-3}$) nach 2 min 40 sec noch einzelne Kontraktionen. Präparat spricht nach Auswaschen auf $1 \cdot 10^{-7}$ Histamin noch gut an.

sprechenden Versuchsanordnung auf den Erfolg der Sensibilisierung testen.

Die Testung erfolgte, nachdem die Empfindlichkeit der Präparate gegenüber Histamin genau bestimmt war. Nach Möglichkeit wurde ein Sistieren der in den verwendeten Entwicklungsstadien meist nur noch unregelmäßigen spontanen

Automatie abgewartet, so daß ziemlich konstante Verhältnisse für die Ansprechbarkeit der Präparate vorlagen.

Die Zugabe des antigenen Hammelserums erfolgte in einer Verdünnung 1 : 10 in Tyrodelösung. Die für die Testung verwendeten Serumendkonzentrationen im Bad waren die gleichen, die bei den aktiv präparierten Amnien zur Schockauslösung für ausreichend befunden waren: Endkonzentrationen von 2,0—3,0 $\times$ 10^{-3} Hammelserum im Bad. Zur Sicherung der Spezifität der auf die Antigenverabfolgung erhaltenen Reaktionen wurde in den meisten Fällen kurz vor oder nach der Testung des antigenen Hammelserums das Verhalten des Amnionpräparates gegenüber normalem und für das Organ nicht antigenem Rinderserum geprüft.

Die Versuche mit passiver Sensibilisierung sind in der Tab. 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. *Passive Sensibilisierung in vivo.*

Sensibilisierung				Test-serum	Erfolgstestung			
					1. Reaktion		2. Reaktion	
Präparat-bez.	Alter in Tagen	Menge in cm³	Inkubationszeit Tg.		Konzentration	Erfolg	Konzentration	Erfolg
71.	9	0,20	6	HSBW	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	⌀	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	⌀
73.	9	0,20	6	HSBW	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	⌀		
79.	9	0,25	6	HSBW	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	⌀		
57.	9	0,26	6	HSBW	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	+	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	±
58.	9	0,20	6	HSBW	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	+++	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	±
59.	9	0,20	6	HSBW	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	⌀	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	⌀
82.	10	0,15	7	HSBW	$1{,}7 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	⌀
83.	10	0,25	7	HSBW	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	+++	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	+
74.	10	0,25	7	HSBW	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	⌀
31.	11	0,20	7	FHS	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	±
32.	11	0,20	7	FHS	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	+
75.	11	0,16	8	HSBW	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	+++	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	++
80.	11	0,15	8	HSBW	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	⌀	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	⌀
81.	11	0,15	8	HSBW	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	⌀	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	⌀
36.	12	0,20	8	FHS	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	⌀	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	⌀
33.	12	0,20	8	FHS	1) $2{,}6 \cdot 10^{-3}$	+++	3) $2{,}6 \cdot 10^{-3}$	+++
					2) $2{,}6 \cdot 10^{-3}$	+++	4) $2{,}6 \cdot 10^{-3}$	⌀
46.	11	0,20	9	FHS	$2{,}4 \cdot 10^{-2}$	+++	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	⌀
43.	11	0,20	9	FHS	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	⌀	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	⌀
62.	12	0,18	9	HSBW	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	±	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	⌀
63.	12	0,18	9	HSBW	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	+++	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	⌀
68.	12	0,15	9	HSBW	$1{,}7 \cdot 10^{-3}$	+++	$1{,}7 \cdot 10^{-3}$	⌀
37.	13	0,20	9	FHS	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	⌀
38.	13	0,27	9	HSBW	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	++	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$	±
70.	13	0,15	10	HSBW	$2{,}3 \cdot 10^{-3}$	+++	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	+++
							3) $2{,}9 \cdot 10^{-3}$	⌀

In der Mehrzahl der Fälle fanden wir nach der Zugabe des Antigens auch hier als Ausdruck der anaphylaktischen Organreaktion eine mehr oder minder intensive Erregung des Präparates. Gegenüber den aktiv sensibilisierten Präparaten zeigen die Reaktionen keinen wesentlichen

Unterschied: Es handelt sich um eine Auslösung der Rhythmik; echte Tonusreaktionen waren höchstens in einigen Fällen angedeutet. Die Erregung war häufig bedeutend unregelmäßiger in ihrem Ablauf als bei den durch Pharmaka hervorgerufenen Erregungen. Erwähnenswert ist, daß die Latenzzeit von der Zugabe des antigenen Hammelserums in das Bad bis zum Eintreten der ersten Erregungsreaktion im Durchschnitt etwas kürzer war als bei den aktiv sensibilisierten Präparaten. Regelmäßig wurde das Präparat durch den Versuch der Auslösung einer nochmaligen Reaktion auf seine Desensibilisierung getestet.

In einigen Fällen war der Desensibilisierungstest nicht positiv. Es gelang vielmehr durch eine zweite, meist höhere Antigengabe, erneut eine Erregung zu erzeugen. In einem Falle wurde auch noch ein drittes Mal die Antigenzugabe mit einer

Abb. 6. Präparat 74. Passive Sensibilisierung im Ei. Inkubationszeit 7 Tage. Untätiges Präparat. Antigenes Hammelserum löst nach 2 min 40 sec in einer Konzentration von $2{,}3 \cdot 10^{-3}$ unregelmäßige Erregung aus. Zweitzugabe des gleichen Serums wird bei einer Konzentration von $2{,}9 \cdot 10^{-3}$ nicht mehr mit einer Erregung beantwortet (positiver Desensibilisierungstest), während $2 \cdot 10^{-7}$ Histamin nach dem Auswaschen noch eine kräftige Erregung auslöst.

Erregung des Präparates beantwortet. Erst dann wurde der Desensibilisierungstest positiv. Man muß die zweite Erregung wohl als durch die Fortsetzung der nicht zu Ende abgelaufenen, sondern durch das mehrmalige Spülen nur unterbrochenen Reaktion hervorgerufen auffassen. Bei dieser Deutung verwenden wir alte gesicherte Erfahrungen der experimentellen Anaphylaxieforschung (Walzer u. Grove).

Die Möglichkeit der Auslösung einer Zweitreaktion an einem isolierten sensibilisierten Uterus durch zweite Verabfolgung einer höheren Antigenkonzentration ist ganz allgemein bekannt (siehe Doerr).

Zu den in der Tab. 2 zusammengefaßten Versuchsergebnissen wäre im einzelnen noch zu berichten, daß sich das negative Ergebnis am Präparat 36 vielleicht durch eine fehlerhafte Injektion erklären läßt. Wir fanden bei der Präparation unter der Einstichstelle in der Schalenhaut ein mit dieser verbackenes Koagulum, das sich nach der Färbung zu urteilen aus dem schwach hämoglobinhaltigen Antiserum zusammensetzte. Daß die Aufnahme von Antikörpern nach Koagulation der Eiweißkörper kaum noch möglich sein wird, darf man wohl annehmen. Die am Anfang der Tab. 2 aufgeführten negativen Ergebnisse mögen sich aus der mit 6 Tagen sicher zu knapp bemessenen Aufnahmezeit für die Antikörper erklären.

Aber auch wenn wir diese erklärbaren Versager mit in das Endergebnis der Versuchsreihe einbeziehen, so ist die sich hierbei ergebende

Erfolgsquote hoch genug, um den Einwand, daß es sich hierbei um Zufallsbefunde handeln könnte, zu entkräften. Die Zahl der gelungenen Versuche ist groß genug, um zu beweisen, daß es auf dem beschrittenen Wege möglich ist, das Hühneramnion in vivo über die passive Sensibilisierung des Embryos mit homologen Seren passiv anaphylaktisch zu machen.

4. Passive Sensibilisierung des Amnions in vitro. Gehen wir von der Vorstellung aus, daß die Bindung der Antikörper an die Muskelzelle ein nerval nicht gesteuerter, mehr oder minder nur einfach physikalisch-chemischen Gesetzmäßigkeiten gehorchender Vorgang ist, so dürfte es keine Schwierigkeiten bereiten, ein überlebendes Gewebe in vitro bei hinreichend langem Kontakt mit einem hochgetiterten Antiserum mit Antikörpern zu beladen. Diese Versuchsanordnung hätte den Vorzug der quantitativen Auswertbarkeit der einzelnen Faktoren, und sie müßte bei geeigneter Kombination der Einzelfaktoren weitgehend übereinstimmende Resultate liefern. Die ersten Versuche dieser Art wurden am Uterushorn des Meerschweinchens von Dale u. Kellaway beschrieben. Bemerkenswert ist es, daß es in neuerer Zeit M. Kulka gelang, schon innerhalb von 5 min die isolierten Uteri normaler Meerschweinchen in einem antikörperhaltigen Bad anaphylaktisch zu machen.

Bei der Ausarbeitung der eigenen Versuchstechnik zur passiven Sensibilisierung des Amnions in vitro haben wir mehr die Erfahrungen von Sherwood an den 3—7 Tage alten embryonalen Kükenherzen berücksichtigt. Wir verwendeten insgesamt 10 Amnien vom 9. und 10., in einem Falle auch vom 11. Bebrütungstage. Sie wurden nach der Präparation unverzüglich in das gleiche Badgefäß mit Tyrodelösung, wie bei den bisherigen Versuchen, eingehängt. Die Temperatur des Bades senkten wir dabei auf 38° C und hofften, damit die Überlebensdauer etwas zu verlängern. Bei diesen Versuchen verwendeten wir die gleichen Seren, die auch schon bei der passiven Präparierung in vivo in das lebende Ei injiziert worden waren. Angegeben sind die tatsächlichen Endkonzentrationen des antikörperhaltigen Serums in der Badflüssigkeit.

Die Testung auf die stattgehabte Sensibilisierung erfolgte unmittelbar, nachdem das antikörperhaltige Bad abgelassen und noch 1—2mal mit normaler Tyrodelösung nachgespült worden war. Die bei der Testung verwendeten Antigenkonzentrationen entsprachen denjenigen, die sich an den aktiv und passiv in vivo sensibilisierten Präparaten als ausreichend erwiesen hatten. Bei dem Aufbau einer Versuchsreihe variierten wir Einwirkungszeit und Konzentration des Serums so, daß die Einwirkungszeit nicht zu kurz war, um die Bindung der Antikörper zustandekommen zu lassen, andererseits nicht zu lang, um die Empfindlichkeit der Präparate nicht zu stark absinken zu lassen. Auch durfte die Eiweißkonzentration im Bad nicht so hoch werden, daß das Präparat primär geschädigt wurde, mußte aber auch stark genug sein, um eine genügende Menge von Antikörpern zur Verfügung zu stellen.

Nach den eingangs geschilderten allgemeinen Erfahrungen mußte eine Einwirkungszeit des Serums von 4 Std schon als eine starke Belastung des Präparates angesehen werden. Der erste nach den Erfahrungen von SHERWOOD angesetzte Versuch, bei dem das Präparat ununterbrochen über 4 Std in einer Serumendkonzentration von $5 \cdot 10^{-3}$ verblieb, endete auch damit, daß es (infolge Schädigung) auch auf die 30fache sonst erregende Dosis von Histamin nur einige spärliche Kontraktionen lieferte. Wir verkürzten die Einwirkungszeit zunächst auf 2 Std und erhöhten dafür die Antikörper-Serumkonzentration. Da es auch hierbei (im Test gegen Histamin) zu einem Empfindlichkeitsverlust des Präparates in einer

Abb. 7. Präparat III. Passive Sensibilisierung *in vitro*. 9 Tage altes Präparat. Nach dem Auswaschen des sensibilisierenden Hühner-anti-Hammelserums Zugabe des antigenen Hammelserums in einer Konzentration von $2{,}6 \cdot 10^{-3}$: Kräftige, spontan abklingende Erregung des Präparates. Das nicht antigene Pferdeserum zeigt in einer Konzentration von $2{,}6 \cdot 10^{-3}$ keine Wirkung, obgleich das Präparat auf $1 \cdot 10^{-7}$ (Histamin) gut anspricht. Die Zweitzugabe des Hammelserums ($2 \cdot 10^{-3}$) wird nicht mehr mit einer Erregung des Präparates beantwortet (Positiver Desensibilisierungstest).

Zeit kam, in der wir bei den gewöhnlichen pharmakologischen Prüfungen eine solche nicht gefunden hatten, konnte hierfür ein „Verbrauch" der Nährlösung nicht ohne weiteres verantwortlich gemacht werden, vielmehr mußte die Schädigungsquelle für das Präparat wahrscheinlich in dem passiv präparierenden Serum gesehen werden. Wir sahen jedenfalls bei der laufenden Registrierung der Automatie der Präparate unter dem Kontakt mit dem antikörperhaltigen Serum, daß die spontane Rhythmik dieser Präparate von der 10. Versuchsminute ab ständig abnahm und nach 30 min völlig verschwand.

Bei Verkürzung der Einwirkungszeit blieben die Präparate ansprechbar, es erfolgte aber keine Sensibilisierung in dieser Zeit. Schließlich gingen wir unter der Vorstellung, daß es sich bei der Hemmung des Präparates vielleicht um in irgendeiner Weise toxische Substanzen handle, die während des Versuches aus dem Serum entstehen, dazu über, die Bindung der Antikörper in zwei oder mehr Zeiten vorzunehmen. Wir unterbrachen etwa nach der Hälfte der von uns als notwendig erachteten Zeit den Kontakt des Präparates mit dem Serum, spülten kurz mit Tyrodelösung und gaben in ein frisches Bad erneut die

gleiche Serummenge zur Bindung von Antikörpern. Bei dieser Technik blieb die Ansprechbarkeit gegenüber Histamin trotz einer Gesamtversuchsdauer bis zu 70 min gut erhalten. Unter diesen Bedingungen gelang es uns, an einem 9 Tage alten Präparat, dessen Automatie erst 50 min nach Versuchsbeginn langsam abklang und das auch bei Versuchsende noch eine sehr gute Erregbarkeit durch Histamin aufwies, bei der Zugabe der üblichen Antigendosis eine kräftige anaphylaktische Reaktion zu erzeugen, die in ihrer Stärke anfangs der Erregung durch $1 \cdot 10^{-7}$ Histamin entsprach, nur mit dem Unterschied, daß sie spontan zum Abklingen kam. Die gleiche Menge des nichtantigenen Pferdeserums ließ das Präparat völlig unbeeinflußt. Eine zweite Zugabe von Hammelserum blieb ebenfalls ohne Erfolg. Der positive Desensibilisierungstest bestätigte also die Spezifität der an diesem Präparat beobachteten Reaktion (Abb. 7).

Leider war es wegen Erschöpfung des Vorrates an passiv präparierenden Seren nicht mehr möglich, eine weitere Sicherung dieses Ergebnisses durch die Wiederholung des Versuches in der zuletzt beschriebenen zum Erfolg führenden Anordnung zu erzielen.

Wir unternahmen noch in gleicher Anordnung an 2 Präparaten den Versuch der heterologen passiven Sensibilisierung in vitro mit einem hochgetiterten Kaninchen-Antipferdeserum. Gemäß den Erfahrungen von Doerr über die passive Präparierung mit heterologen Seren ließen sich jedoch die Präparate mit den vom Kaninchen stammenden Antikörpern nicht sensibilisieren.

Zusammenfassung.

Am nervenfreien Hühneramnion, dessen Präparation und Verwendung als isoliertes Organ für pharmakologische Testreaktionen genauer beschrieben wird, wurde versucht, serumanaphylaktische Reaktionen in einer der Schultz-Daleschen entsprechenden Versuchsanordnung nachzuweisen. Diese Versuche wurden nach drei Richtungen hin ausgeführt:

1. Aktive Sensibilisierung durch Injektion des Antigens ins Eiklar des bebrüteten Hühnereies.

2. Passive Sensibilisierung unter den gleichen Bedingungen. Das passiv präparierende Serum für diese Versuche wurde von Hühnern nach Sensibilisierung gegen Hammelserum gewonnen.

3. Passive Sensibilisierung in vitro.

Die Hauptschwierigkeiten bei den in vivo-Versuchen lagen darin, daß einerseits die Gebrauchsfähigkeit des Amnions als Präparat nur während des Zeitraumes vom 6.—13. Bebrütungstage gegeben ist, andererseits aber die Bildung und auch die Bindung von Antikörpern einen Zeitraum von mehreren Tagen benötigt. Auch für die passive Sensibilisierung in vitro boten sich hinsichtlich der zeitlichen Versuchsbedingungen gewisse Schwierigkeiten.

Zur Sicherung der Spezifität der bei der Testung erzielten Reaktionen wurden Kontrollversuche mit unspezifischen Seren, ferner der Desensibilisierungstest ausgeführt.

Nach aktiver Sensibilisierung reagierten 35% der Amnien mit einem deutlichen anaphylaktischen Organschock.

Nach passiver Sensibilisierung in vivo gelang an über 60% der verwendeten Amnien der gleiche Nachweis.

Bei passiver Sensibilisierung von überlebenden Amnien in vitro wurde unter 10 Präparaten ein einziger deutlich positiver Befund erhoben.

Zur Auslösung einer Antikörperbildung scheint die Anwesenheit funktionstüchtigen Nervengewebes nicht erforderlich. Zur Bindung bereits vorhandener Antikörper kann die Gegenwart nervaler Strukturen nicht unbedingte Voraussetzung sein. Der anaphylaktische Organschock ist auslösbar ohne das Vorhandensein nervaler Elemente.

Literatur.

Ajo, C.: C. r. Soc. Biol. (Paris) **120**, 1177 (1935). — Ajo, C., et A. Arthus: C. r. Soc. Biol. (Paris) **124**, 1045 (1937). — Arnoldi, W., u. E. Leschke: Dtsch. med. Wschr. **1920**, 1018. — von Baer, K. E.: Über die Entwicklungsgeschichte der Thiere. Beobachtungen und Reflexionen, I, 136—138, Königsberg, 1828. — Baur, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **134**, 49 (1928). — Bautzmann, H., u. R. Schröder: Z. Anat. **117**, 166 (1953). — Umschau **54**, 77 (1954). — Belak, S.: Klin. Wschr. **1939**, 472. — Bender, M. B.: J. of Immun. **47**, 483 (1943). — Biedl, A., u. R. Kraus: Handb. d. Techn. u. Methodik d. Immunitätsforschg. 1. Erg. Bd. S. 255, 1911. — Bogendörfer, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **124**, 65 (1927). — Burnet, M., and F. Fenner: The Production of Antibodies, Mac Millan, Melbourne/Australien, 1949. — Dale, H. H.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **4**, 177 (1913). — Dale, H. H., and C. H. Kellaway: J. of Physiol. **54**, 143 (1921). — Doerr, R.: Erg. Hyg., **5**, 73 (1922). — Handb. der normal. u. Pathol. Physiol. **13**, 662 (1929). — Die Anaphylaxie I u. II. Immunitätsforschung, Bd. IV u. V, Wien 1950. — Downs, C. M.: J. of Immun. **15**, 77 (1928). — Ederle, W.: Allergie und Nervensystem, Stuttgart 1947. — de Eds, F.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **28**, 451 (1926). — Engelhardt, G.: Inaug. Diss. Göttingen 1954. — Evans, D. H. L., and H. O. Schild: J. of Physiol. **122**, 63p (1953). — Ferguson, J.: Amer. J. Physiol. **131**, 524 (1940). — Friedberger, E., u. O. Hartoch: Z. Immun. **3**, 581 (1909). — Friedli, H.: Z. Hyg. **104**, 233 (1925). — Gahringer, J. E.: J. of Immunol. **12**, 477 (1926). — Gessner, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **147**, 366 (1930). — Hammar, J. A.: Arch. mikrosk. Anat. u. Entw. mechan. **98**, 48 (1923). — Hansen, K.: Allergie, 2. Aufl., Leipzig 1943. — Hanzlik, P. J., E. M. Butt and A. B. Stockton: J. of Immun. **13**, 409 (1927). — Hanzlik, P. J., and A. B. Stockton: J. of Immun. **13**, 395 (1927). — Jensen, J., u. H. Woratz: Arch. Hyg. **136**, 343—353 (1952). — Kaiserling, H.: Virchows Arch. **299**, 253 (1937); **301**, 111 (1938). — Kalbfleisch, H. H.: Dtsch. med. Wschr. **1938**, 1601. — Kallos, P., u. L. Kallos-Deffner: Internat. Arch. Allergy a. appl. Immunol. **2**, 198 (1951). — Kulka, A. M.: J. of Immun. **46**, 235 (1943). — Kuntz, A.: Ann. Allergy **3**, 91 (1945). — Internat. Arch. Allergy a. appl. Immunol. **1**, 77, (1950). — Kuschinsky, G., H. Lüllmann u. E. Muscholl: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — Kyes, P., and E. R. Strauser: J. of Immun. **12**, 419 (1926). —

Langley, I. N.: Zit. bei Baur. — Lissak, K., and B. R. Hodes: Amer. J. Physiol. **124**, 637 (1938). — Ludwig, F., u. J. von Ries: Zbl. Gynäk. **60**, 1925 (1936). — Moody, P. A.: J. of Immun. **39**, 113 (1940). — Nakamura, K., u. Y. Takahashi: Jap. J. Exper. Med. **16**, 161 (1938). — Patten, B. M.: The Early Embryology of the Chick, Philadelphia, 1948. — Peterfi, T.: Anat. Anz. **45**, 161 (1914). — Pierce, M. E.: J. of Exper. Zool. **65**, 443 (1933). — Pottinger, F. M.: Zit. bei Seastone u. Rosenblueth. — Preyer, W.: Specielle Physiologie des Embryo, Leipzig, 1885. — Reitler, R.: Z. Immun.forsch. **40**, 443 (1924). — Remak, R.: Arch. f. Anat. **1854**, 369—373. — Schmidt, K.: Inaug. Diss. Göttingen 1954. — Schürer, J., u. R. Strasmann: Z. Immun.forsch. **12**, 143 (1912). — Seastone jr., C. V., and A. Rosenblueth: J. of Immun. **27**, 57 (1934). — Seelich, F., u. K. Niessing: Z. Immun.forsch. **98**, 1 (1940). — Seelich, F.: Wien. klin. Wschr. **1948**, 709. — Sherwood, N. P.: J. of Immun. **15**, 65, (1928). — Sherwood, N. P., and C. M. Downs: J. of Immun. **15**, 73 (1928). — Spiegel, A., u. K. Kubo: Z. exper. Med. **38**, 458 (1923). — Stoehr, Ph.: Zit. bei Baur, M. — Storck, H.: Internat. Arch. Allergy a. appl. Immunol. **1**, Supplementum 25, 1950. — Thaddea, S.: Zbl. inn. Med. **60**, 146 (1939). — Uhlenhuth, P., u. Händel: Z. Immun.forsch. **4**, 761 (1910). — Verzar, F.: Pflügers Arch. **158**, 419 (1914). — Walzer, M., and E. Grove: J. of Immun. **10**, 483 (1925). — Wiener, A. S.: Ann. Allergy **10**, 535 (1952). — Witebsky, E., et J. Szepsenwool: C. r. Soc. Biol. (Paris) **115**, 191 (1934). — Wittich, F. W.: J. Allergy **12**, 523 (1941).

Professor Dr. L. Lendle, Göttingen, Pharmakol. Institut d. Univ., Geiststr. 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 421—427 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. P. Holtz).

Versuche mit Acetyl-, Propionyl- und Butyrylcholin am isolierten Herzvorhofpräparat*.

Von
P. Holtz und E. Westermann.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Dezember 1954.)

Banister u. Mitarb. wiesen vor kurzem in der Milz neben Acetylcholin *Propionylcholin* nach. Untersuchungen unseres Institutes (Holtz u. Schümann) führten zu dem Ergebnis, daß in Gehirnextrakten neben Acetylcholin wahrscheinlich auch *Butyrylcholin* vorkommt. Von den beiden Estern ist seit Read Hunt bekannt, daß sie bei nur schwacher *muscarinähnlicher* eine starke *nicotinartige* Wirksamkeit besitzen.

Vor kurzem berichteten Bülbring u. Burn, daß die spontan zum Stillstand gekommene Automatie des isolierten Vorhofpräparates des *Kaninchen*herzens sich durch Acetylcholin wieder erwecken lasse. Da uns die Reproduktion der von den englischen Autoren erhaltenen Ergebnisse in Versuchen am *Meerschweinchen*vorhof nicht gelang, haben wir die mit Acetylcholin negativ verlaufenen Versuche mit dem von jetzt an ebenfalls als „körpereigen" anzusehendem Propionyl- und Butyrylcholin wiederholt. Wir erwarteten, daß die Wiedererweckung eines zum Stillstand gekommenen Vorhofpräparates mit einem überwiegend *nicotinartig* wirkenden Cholinester eher gelingen würde, als mit Acetylcholin, bei dem die Muscarinwirkung so stark ausgeprägt ist.

Im folgenden wird zunächst über Versuche am normal schlagenden Vorhof, sodann an spontan zum Stillstand gekommenen Präparaten berichtet.

Methodik.

Die Versuche wurden am isolierten Vorhof von Kaninchen-, Meerschweinchen- und Rattenherzen durchgeführt. Nach Entfernung des Herzbeutels wird die Vena cava inf. herznah und die Vena cava sup. herzfern mit einem Faden angeschlungen, das Herz herauspräpariert und in zimmerwarme O_2-gesättigte Tyrodelösung folgender Zusammensetzung gebracht: NaCl 8,0; KCl 0,2; $CaCl_2$ 0,2; $NaHCO_3$ 1,0; NaH_2PO_4 0,05; Glucose 3,0; Aqua dest. ad 1000,0. Anschließend wird die Herzspitze abgeschnitten, so daß das Präparat mit Tyrode durchgespült werden kann. Nach einigen Minuten sistieren die Vorhofkontraktionen. Jetzt wird der Kammerkomplex möglichst nahe der Vorhofkammergrenze abgetrennt und der Vorhof von dem

* Herrn Prof. Dr. Paul Wels zum 65. Geburtstag am 2. Februar 1955 in Verehrung und Dankbarkeit.

anhaftenden Mediastinalgewebe befreit. Das Präparat besteht dann nur noch aus Vorhofmuskulatur und Herzohren. Es wird nach Durchschneidung des an der Vena cava sup. befindlichen Zügels mit dem um die Vena cava inf. geschlungenen Faden am Boden des Versuchsgefäßes fixiert und ein Herzohr mit einer Serre fine am Schreibhebel (Belastung etwa 1 g, Hebelübersetzung etwa 10fach) befestigt. Die

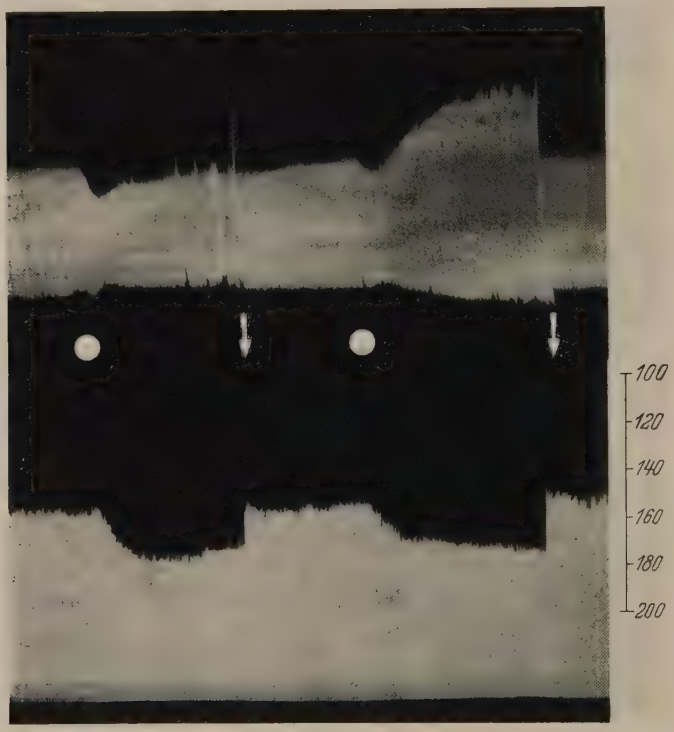


Abb. 1. *Die Wirkung hoher Propionyl- und Butyrylcholindosen am isolierten Meerschweinchenvorhof.* Oben: Mechanogramm. — Unten: Frequenz/Minute in Zeitordinatenschreibung. 20 cm³ Tyrode, 29° C. Pch = Propionylcholin, Bch = Butyrylcholin, ↓ Badwechsel.

Badflüssigkeit (20 cm³), deren Temperatur auf 29° C gehalten wird, muß durch eine Fritte reichlich mit Sauerstoff durchperlt werden.

Nach kurzer Zeit beginnen die Vorhöfe wieder zu schlagen. Die Frequenz liegt unter diesen Versuchsbedingungen für den Kaninchenvorhof meistens bei 70 bis 100/min, für den Meerschweinchenvorhof bei 120—150/min, für den Rattenvorhof zwischen 150—180/min. Die mit der Stoppuhr gemessene Frequenz wurde in einem Teil der Versuche mit einem Ordinatenschreiber fortlaufend registriert.

Versuche.

1. Versuche am normalschlagenden Vorhofpräparat.

Schon kleine *Acetylcholin*mengen (0,1—1,0 γ) haben am Meerschweinchenvorhof einen deutlich negativ inotropen Effekt. In der Mehrzahl der Versuche blieb die Frequenz unbeeinflußt. — Auch mit *Propionylcholin*

lassen sich — bei Dosierungen von 30—80 γ — rein negativ inotrope Effekte erzielen. Bei etwas höheren Dosierungen jedoch (100—200 γ) kommt es zu einer biphasischen Wirkung, indem sich an eine nur schwache negativ inotrope eine stärkere positiv inotrope Wirkung anschließt (Abb. 2). Bei noch höheren Dosen schließlich tritt die positiv inotrope Wirkung zurück und kann ganz fehlen, so daß wieder eine rein negativ inotrope Wirkung resultiert (Abb. 1). Die Erklärung für dieses Verhalten dürfte darin liegen, daß die nicotinartige positiv inotrope Wirkung schon im Bereich der mittleren Dosen (100—200 γ) ihr Maximum erreicht, während die muscarinartige negativ inotrope Wirkung durch höhere Dosierung (200—400 γ) noch steigerungsfähig ist.

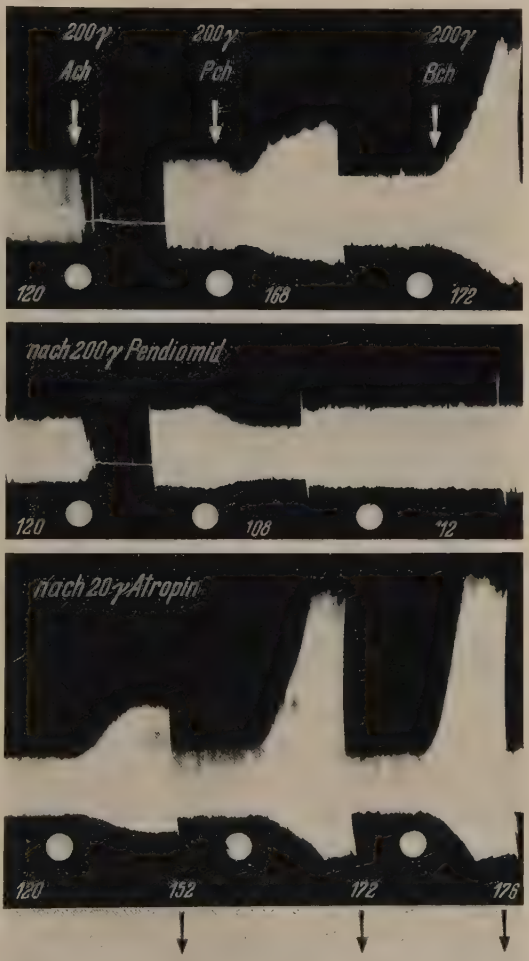


Abb. 2. *Beeinflussung der Acetyl-, Propionyl- und Butyrylcholinwirkung durch Pendiomid bzw. Atropin am isolierten Meerschweinchenvorhof.* Die Zahlen unter dem Mechanogramm geben die Frequenz/Minute an. Versuchsbedingungen und Bezeichnungen wie in Abb. 1. Ach = Acetylcholin.

Das gilt nicht für die *chronotrope* Wirkung. Diese ist offenbar leichter durch die nicotinartige Wirkungskomponente des Propionylcholins *positiv* als durch seine muscarinartige Wirkung *negativ* zu beeinflussen. Deshalb nimmt im Gegensatz zur inotropen die chronotrope Wirkung mit steigernder Dosierung zu, so daß es im Bereich der hohen Dosen zu einer „Dissoziation" von Inotropie und Chronotropie kommt: ein rein negativ *inotroper* geht mit einem positiv *chronotropen* Effekt einher (Abb. 1).

Beim *Butyrylcholin* überwiegt die nicotinartige Komponente die muscarinartige so sehr, daß rein negativ inotrope Wirkungen überhaupt nicht auftreten (Abb. 2a). Erst bei sehr hohen Dosen (400—800 γ), welche die schon maximale positiv inotrope Wirkung nicht noch weiter zu steigern vermögen, kommt die zwar nur schwach ausgeprägte, aber doch vorhandene muscarinartige Hemmungswirkung darin zum Ausdruck, daß die nicotinartige Förderwirkung eine Abschwächung erfährt: 400 γ Butyrylcholin (Abb. 1) sind schwächer wirksam als 200 γ (Abb. 2a). Die unterschiedliche Ausprägung der beiden Wirkungskomponenten der

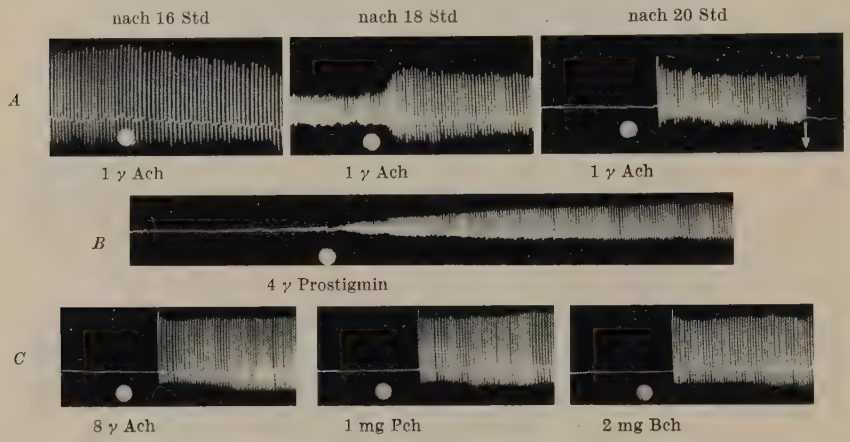


Abb. 3. *Isolierter Rattenvorhof. Die Wirkung der Cholinester und des Prostigmins auf den hypodynamen und spontan zum Stillstand gekommenen Rattenvorhof.* Versuchsbedingungen und Bezeichnungen wie in Abb. 1.

Cholinester läßt sich auch am Vorhofpräparat durch Vorbehandlung mit Atropin bzw. Ganglienblockern (Pendiomid, Hexamethonium) besonders deutlich machen (Abb. 2b und c). — *Pendiomid*, das die Nicotinwirkung aufzuheben vermag, läßt erwartungsgemäß die Acetylcholinwirkung unbeeinflußt, hebt dagegen die positiv inotrope und chronotrope Wirkung der beiden anderen Cholinester vollständig auf. Nach *Atropinisierung* wird umgekehrt die muscarinartige Hemmungswirkung des Acetylcholins, die bei der hohen Dosierung zum Herzstillstand führte, nicht nur vollständig aufgehoben, sondern in eine rein positiv inotrope und chronotrope Wirkung umgekehrt, die aber deutlich schwächer ist als diejenige des Propionyl- und Butyrylcholins.

2. Versuche am stillstehenden Vorhofpräparat.

Nach 24—48stündigem Schlagen kommen die Vorhofpräparate spontan zum Stillstand. In zahlreichen Versuchen an so zum Stillstand gekommenen *Meerschweinchen*vorhöfen gelang es uns nie, den von Bülbring u. Burn für den *Kaninchen*vorhof beschriebenen Effekt des Acetylcholins

zu erhalten, nämlich die erloschene Automatie wiederzuerwecken. Entgegen unserer Erwartung gelang das auch nicht mit Propionyl- und Butyrylcholin. Zu positiven Ergebnissen kamen wir jedoch in Versuchen mit Vorhofpräparaten der *Ratte*.

Die Abb. 3a zeigt einen Versuch am isolierten Rattenvorhof, der nach 16stündigem Schlagen stark hypodynam geworden ist. 1 γ Acetylcholin hat nur noch eine schwache inhibitorische Wirkung. Nach weiteren 2 Std wirkt die gleiche Acetylcholindosis nicht mehr negativ, sondern positiv

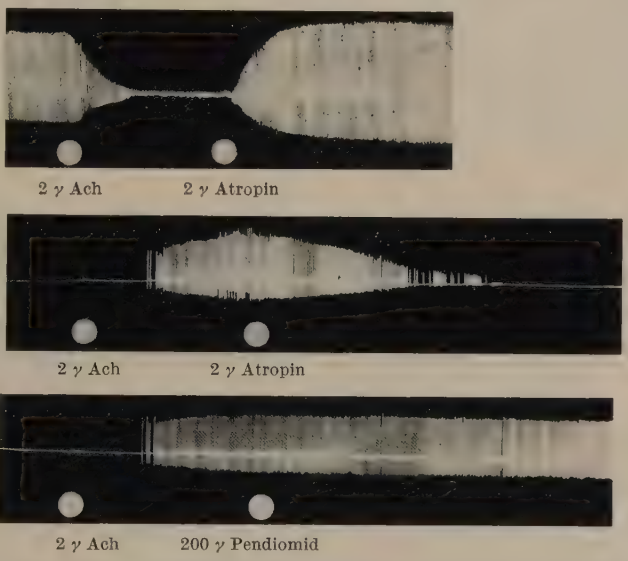


Abb. 4. *Isolierter Rattenvorhof. Die Wirkung von Acetylcholin, Atropin und Pendiomid auf den normalen (A) und spontan zum Stillstand gekommenen Rattenvorhof (B).* Versuchsbedingungen und Bezeichnungen wie in Abb. 1.

inotrop. Ist das Vorhofpräparat dann schließlich nach 20 Std zum Stillstand gekommen, so läßt es sich jetzt durch 1 γ Acetylcholin wieder zum Schlagen bringen. Der gleiche Effekt ist mit Eserin oder Prostigmin, also durch Hemmung der Cholinesterase zu erzielen (Abb. 3b).

Versuche mit Propionyl- und Butyrylcholin sollten Aufschluß darüber geben, ob die „Weckwirkung" des Acetylcholins seiner muscarin- oder seiner nicotinartigen Wirksamkeit zukommt. Es zeigte sich, daß von diesen beiden Estern mit weit schwächerer Muscarinwirkung viel höhere Dosen als von Acetylcholin erforderlich sind (Abb. 3c). In diesem Versuch benötigten wir, um das Präparat wieder zum Schlagen zu bringen, 8 γ Acetylcholin, hingegen 1 mg Propionyl- und 2 mg Butyrylcholin. Nicotin vermochte trotz seiner stark positiv inotropen und chronotropen Wirkung am normalschlagenden Vorhof den zum Stillstand gekommenen nicht wieder zu erwecken.

Versuche mit Pendiomid und Atropin sprechen sodann auch dafür, daß es die muscarin- und nicht die nicotinartige Wirkung ist, die den stillstehenden Vorhof wieder zum Schlagen bringt.

Aus Abb. 4 ist zu ersehen, daß Atropin am normal schlagenden Präparat die negativ inotrope Acetylcholinwirkung durchbricht und den gehemmten Vorhof wieder zu kräftigem Schlagen bringt. Am stillstehenden Vorhof verhält es sich gerade umgekehrt: die durch Acetylcholin wiedererweckte Automatie wird durch Atropin gelähmt und zum Erlöschen gebracht. Demgegenüber läßt Pendiomid die durch Acetylcholin wiedererweckte Automatie unbeeinflußt.

Da es demnach nur die Muscarinwirkung der Cholinester zu sein scheint, die den zum Stillstand gekommenen Vorhof wiedererweckt, lag es nahe, auch andere, körperfremde Stoffe von muscarinähnlicher Wirksamkeit zu versuchen. Der in Abb. 5 dargestellte Versuch zeigt, daß nicht

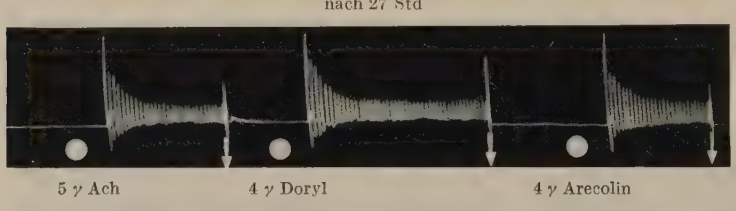


Abb. 5. *Isolierter Rattenvorhof. Der spontan zum Stillstand gekommene Rattenvorhof wird durch gleiche Dosen Acetylcholin, Carbaminoylcholin (Doryl) und Arecolin wieder zum Schlagen gebracht.* Versuchsbedingungen und Bezeichnungen wie in Abb. 1.

nur das körpereigene Acetylcholin, sondern auch Doryl — der Carbaminsäureester — und das sicher körperfremde Arecolin in der gleichen Dosierung wie Acetylcholin den stillstehenden Vorhof wieder zum Schlagen bringen.

Bemerkung zu den Versuchsergebnissen.

Bülbring u. Burn sind geneigt, der paradoxen Wirkung des Acetylcholins am stillstehenden Vorhof einen biochemischen Wirkungsmechanismus zugrunde zu legen. Sie konnten zeigen, daß die im stillstehenden Vorhof nur noch geringe oder erloschene Acetylcholinsynthese durch kleine Acetylcholindosen wieder angefacht wird, und nehmen an, daß kausale Beziehungen zwischen „Automatie“ und Acetylcholinsynthese bestehen. Wenn diese Deutung zutrifft, dann wäre zu erwarten, daß auch Doryl und Arecolin die verminderte Synthesefähigkeit des zum Stillstand gekommenen Vorhofs anzuregen vermögen.

Zusammenfassung.

Versuche am isolierten Herzvorhof hatten folgende Ergebnisse:

1. Am normal schlagenden Präparat des *Meerschweinchens* wirkt Acetylcholin rein negativ inotrop. Demgegenüber verursachen Propionyl- und Butyrylcholin auf Grund ihrer schwächeren muscarinartigen und

stärkeren nicotinartigen Wirkung auch positiv inotrope Effekte. Durch Vorbehandlung des Präparates mit Atropin bzw. Ganglienblockern (Pendiomid, Hexamethonium) ist es möglich, die beiden Wirkungskomponenten gegeneinander abzugrenzen.

2. Spontan zum Stillstand gekommene Präparate des *Ratten*herzens — nicht aber des Meerschweinchenherzens — ließen sich mit Acetylcholin wieder zum Schlagen bringen. Dieser Effekt kommt der *muscarinartigen* Wirkungskomponente des Acetylcholins zu, da er a) durch Atropin aufgehoben wird, b) Propionyl- und Butyrylcholin nur ihrer muscarinartigen Wirksamkeit entsprechend, d. h. in 100—200fach höherer Dosierung die gleiche Wirkung haben, c) auch andere muscarinartig wirkende Stoffe — Doryl, Arecolin — in gleicher Dosierung wie Acetylcholin den stillstehenden Vorhof wieder zum Schlagen bringen.

Literatur.

Banister, J., V. P. Whittaker and S. Wijesundera: J. of Physiol. **121**, 55 (1953). — Bülbring, E., and J. H. Burn: J. of Physiol. **108**, 508 (1949). — Holtz, P., u. H. J. Schümann: Naturwissenschaften **41**, 306 (1954). — Hunt, R., and R. R. Renshaw: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **51**, 237 (1934).

Prof. Dr. P. Holtz und Dr. E. Westermann, Frankfurt/Main, Pharmakolog. Institut d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 428—441 (1955).

Aus der Biophysik. Abt. des Heiligenberg-Institut, Heiligenberg/Baden (Leiter: Prof. Dr. H. Langendorff) und den Forschungslaboratorien der Fa. Degussa, Frankfurt/Main (Leiter: Dr. H. Schulz).

Die Hemmung der α-Naphthylthioharnstoffvergiftung durch Cysteamin und seine Derivate.

(Zugleich ein Beitrag zur Toxikologie und Strahlenschutzwirkung dieser Sulfhydrylkörper.)

Von

R. Koch und W. Schwarze.

(Eingegangen am 20. Februar 1955.)

In den letzten Jahren wurde die Strahlenschutzwirkung des Cysteins [Patt u. Mitarb. (1, 2)] und diejenige des Cysteamin [Bacq u. Herve (1)] an röntgentotalbestrahlten Tieren beschrieben. In eigenen Untersuchungen unter gleichen Bedingungen beschäftigten wir uns mit der Frage, ob dieser Effekt des Cysteins — Cysteamins spezifischer Natur ist oder ob er allgemein sulfhydrylgruppentragenden Verbindungen zukommt [Langendorff, Koch u. Hagen (1—3)]. Wir möchten auf Grund unserer Beobachtungen annehmen, daß es sich um eine spezifische Wirkung der „Cystein-Cysteamin-Gruppe" handelt. Im Verlauf dieser Untersuchungen gelangte eine Reihe N-substituierter Derivate des Cysteamins zur Anwendung, die zum Teil ebenfalls eine Strahlenschutzwirkung besitzen. Sie erscheinen teils wirksamer als ihre Muttersubstanz, andererseits aber auch toxischer, teils wird die Verweildauer des Schutzeffektes verlängert.

Die zur Zeit herrschenden Vorstellungen über die während der Bestrahlung in der Zelle ablaufenden Reaktionen gehen auf radiochemische Beobachtungen zurück. Danach kommt es in erster Linie zu oxydativen Prozessen, die durch OH- und HO_2-Radikale sowie das sich bildende H_2O_2 bedingt sind. Weitere Beobachtungen in vitro zeigen, daß sich SH-Enzyme hierbei besonders leicht oxydieren. Bezogen auf den allgemeinen Strahlenschaden stellt man sich vor, daß lebenswichtige SH-Gruppen der Zelle auf diese Weise blockiert werden. Die Zufuhr von Cystein bzw. Cysteamin und verwandten Schutzkörpern vor der Bestrahlung würde also quasi den eintretenden Verlust mildern [Barron, Herve u. Bacq, Gray, Errera, Bacq u. Herve (2)].

In letzter Zeit wurden eine Reihe von Substanzen beschrieben, die man besonders im angelsächsischen Schrifttum als „SH-Blocker" bezeichnet. Zu ihnen gehören: α-Naphthylthioharnstoff, Phenylthioharnstoff, Alloxan, Dithizon und Natrium-tetrathionat. Im Gegensatz zu den schon seit langem bekannten Sulfhydrylreagentien wie Hg und

3wertigen Arsenverbindungen oder Jodacetat kennt man den Wirkungsmechanismus der ersteren nur ungenügend. Daß man sie als SH-Blocker anspricht, hat seinen Grund, weil ihre Wirkung durch Applikation von Cystein oder Glutathion aufgehoben wird.

Gefunden wurde dieser Effekt für Alloxan beim Alloxan-Diabetes von Lazarow (1, 2), Abderhalden u. Patterson, Lazarow u. Levey; α-Naphthylthioharnstoff und Phenylthioharnstoff von DuBois, Holm u. Doyle, sowie Harvey, Tatum u. Himmelfarb; Natrium-tetrathionat von Gilman, Philips, Koelle, Allen u. John.

Zwischen der Wirkungsweise der sogenannten SH-Blocker und den Vorgängen unter der Bestrahlung besteht somit eine Ähnlichkeit. Da nicht nur Cystein oder Glutathion als Antagonisten der SH-Blocker untersucht wurden, sondern auch andere SH-Körper, ergaben sich gewisse Parallelen zu der von uns angeschnittenen Frage im Strahlenschutzversuch: Liegt auch hier eine spezifische Wirkung der „Cystein-Gruppe" vor? Ursprünglich mit einer anderen Zielsetzung begonnene Versuche an Mäusen zeigten uns [Langendorff u. Mitarb., (3)], daß tatsächlich genau wie im Strahlenschutzversuch z. B. Thioglykolsäure nicht, Cysteamin dagegen sehr wohl in der Lage war, die Tiere gegen eine nachfolgende toxische Gabe von α-Naphthylthioharnstoff zu schützen. Eine weitere Ähnlichkeit zum Bestrahlungsversuch bestand darin, daß der Effekt des Cysteins oder Cysteamins nur nachweisbar war, wenn man es kurz vor der nachfolgenden α-Naphthylthioharnstoffgabe applizierte. Erfolgte die Schutzstoffapplikation entweder 30 min vorher oder gar hinterher, so wurde der Ablauf der Vergiftung mit α-Naphthylthioharnstoff nicht geändert.

Die sehr ähnlichen Verhaltensweisen sowohl im Bestrahlungsversuch als auch bei der Vergiftung mit α-Naphthylthioharnstoff waren Veranlassung, die N-substituierten Cysteaminderivate nach Klärung ihrer Strahlenschutzwirkung auch gegenüber dieser definierten Intoxikation zu untersuchen. Möglicherweise eröffnet sich hier ein Weg, etwas mehr über den Biochemismus der Strahlenschädigung zu erfahren. Andererseits zeigten vorangehende Bestrahlungsversuche von uns [Langendorff u. Mitarb., (2)], daß eine vor dem Strahleninsult erfolgte Applikation von α-Naphthylthioharnstoff nicht in der Lage war, die Tiere gegen die Bestrahlung zu sensibilisieren, wie man das bei gleichem oder ähnlichem Angriffspunkt hätte erwarten können.

Die ersten Versuche mit Mäusen ergaben, daß Cysteamin quantitativ wirksamer war als Cystein. Während 400 γ l-Cystein/g Maus 70,0% Überlebende bei einer nachfolgenden i.v. Gabe von α-Naphthylthioharnstoff erzielten (Kontrollen ohne Schutz: 21,7% Überlebende), waren es bei 150 γ Cysteamin/g Maus 90%. Im Strahlenschutzversuch fanden wir [Langendorff u. Mitarb., (1)] im Gegensatz zu Straube u. Patt einen entsprechenden Unterschied zwischen den beiden Körpern auch unter Berücksichtigung der molaren Verhältnisse nicht.

Hemmung der Vergiftung mit α-Naphthylthioharnstoff.

Methodik.

In den vorliegenden Versuchen verwendeten wir, um die Schutzwirkung der einzelnen Sulfhydrylkörper gegenüber einer akuten Vergiftung mit α-Naphthylthioharnstoff zu klären, Ratten beiderlei Geschlechts im Gewicht zwischen 120 bis 180 g. Die Tiere entstammten einem institutseigenen Ratteninzuchtstamm, mit dem auch alle Strahlenschutzversuche vorgenommen werden. Wir konnten beobachten, daß jüngere und ältere Tiere eine größere Empfindlichkeit gegenüber α-Naphthylthioharnstoff aufwiesen. Im einzelnen richteten wir uns in der Versuchsanordnung nach den Angaben von DuBois, Holm u. Doyle. α-Naphthylthioharnstoff wurde 0,1%ig in 1,2-Propylenglykol (BASF) gelöst und in allen Versuchen intraperitoneal injiziert. Wir können die Angaben der amerikanischen Autoren bestätigen, daß eine Dosis von 5 mg/kg als DL 50 anzusehen ist. Um deutlichere Schutzeffekte und vergleichbare Werte zu den Befunden von DuBois u. Mitarb. zu haben, gaben wir den Ratten 7 mg/kg. Diese Dosis entspricht nicht ganz der DL 100.

Die Schutzkörper wurden in jedem Fall 15 min vor der Injektion des α-Naphthylthioharnstoffes ebenfalls intraperitoneal gegeben, jedoch immer in wäßriger Lösung.

Untersucht wurden im einzelnen: l-Cystein, dl-Isocystein, dl-Homocystein, Cysteamin, Cystamin, N-Dimethylcysteamin, N-Monomethylcysteamin, N-Diäthylcysteamin, N-Acetylcysteamin und N-Acetylmethylcysteamin. Ihre Formeln, Molekulargewichte, Strahlenschutzwirkung in „absolut-Prozenten" der Überlebenden gegenüber bestrahlten, aber nicht behandelten Kontrollen und die dabei in Anwendung gebrachte Dosis in mmol/20 g Maus sind in Tab. 1 zusammengestellt.

In den letzten beiden Spalten werden in Klammern Werte angeführt, die berechnet sind, um Vergleiche zwischen äquimolaren Dosen ziehen zu können. Wir möchten aber betonen, daß derartige Umrechnungen nur mit Vorbehalt zu werten sind, wie die Beispiele des N-Mono- und N-Dimethylcysteamins ausweisen. Infolge der größeren Toxicität dieser Körper geht bei höherer Dosierung ein Teil des Strahlenschutzeffektes wieder verloren. Das trifft besonders für Cystamin und N-Diäthylcysteamin zu. Schon eine geringe Dosiserhöhung liegt im toxischen Bereich und ist daher im Schutzversuch nicht mehr prüfbar.

In Tab. 2 haben wir die Hemmung der α-Naphthylthioharnstoffvergiftung dargestellt. Es bestätigen sich die Angaben der Literatur, daß Cystein einen Schutzeffekt ausübt, der allerdings an eine auffallend hohe Dosis gebunden ist, besonders wenn man einen Vergleich zur Strahlenschutzwirkung zieht. Dabei ist es notwendig, vor der Applikation die Cystein-Hydrochloridlösung zu neutralisieren, da sonst die Tiere wegen der großen Menge einer Säurevergiftung anheimfallen. Wie in unseren früheren Mäuseversuchen [Langendorff u. Mitarb., (3)] sehen wir auch im vorliegenden mit Ratten und ganz im Gegensatz zu unseren Beobachtungen beim Bestrahlungseffekt (Tab. 1) eine beachtliche Wirkungssteigerung beim Cysteamin. Schon etwa $^1/_{10}$ der Cysteindosis

als Cysteamin gegeben, zeigt einen vollen Schutzeffekt. Die Wirkung wird nochmals verstärkt durch eine Alkylsubstituierung am Stickstoff des Cysteamin. Es ist schließlich nur noch etwa $^1/_{20}$ der ursprünglichen Cysteinmedikation notwendig, um die Ratten vor der nachfolgenden α-Naphthylthioharnstoffvergiftung zu schützen. Wie es scheint, ist die

Tabelle 1.

Formel	Substanz	Molgewicht	Strahlenschutzversuche an Mäusen: Zu- bzw. Abnahme überlebender Tiere nach 500 r in absol. %	Strahlenschutzversuche an Mäusen: Dosis in mmol/20 g Maus (): berechnet
$HS—CH_2—CH(NH_2)—COOH$	l-Cystein	121	+36,0%	$2{,}54\times10^{-2}$
$NH_2—CH_2—CH(SH)—COOH$	dl-Isocystein	121	+ 1,7% —22,0%	$1{,}27\times10^{-2}$ l-Form $2{,}54\times10^{-2}$
$HS—CH_2—CH_2—CH(NH_2)—COOH$	dl-Homocystein	135	+50,0% (+31,6%)	$4{,}01\times10^{-2}$ l-Form $(2{,}54\times10^{-2})$
$HS—CH_2—CH_2—NH_2$	Cysteamin (β-Mercaptoäthylamin)	77	+40,0% (+26,4%)	$3{,}85\times10^{-2}$ $(2{,}54\times10^{-2})$
$H_2N—CH_2—CH_2—S$ $H_2N—CH_2—CH_2—S$	Cystamin (Cystinamin)	152	+48,0% (—)	$1{,}97\times10^{-2}$ (—)
$HS—CH_2—CH_2—N(CH_3)_2$	N-Dimethylcysteamin	105	+38,5% (+73,6%) +22,8%	$1{,}33\times10^{-2}$ $(2{,}54\times10^{-2})$ $2{,}66\times10^{-2}$
$HS—CH_2—CH_2—NH—CH_3$	N-Monomethylcysteamin	91	+20,0% (+38,2%) +26,0%	$1{,}33\times10^{-2}$ $(2{,}54\times10^{-2})$ $2{,}66\times10^{-2}$
$HS—CH_2—CH_2—N(C_2H_5)_2$	N-Diäthylcysteamin	133	+30,0% (—)	$7{,}52\times10^{-3}$ (—)
$HS—CH_2—CH_2—NH—CO—CH_3$	N-Acetylcysteamin	119	+41,5% (+33,4%)	$3{,}16\times10^{-2}$ $(2{,}54\times10^{-2})$
$HS—CH_2—CH_2—N(CO—CH_3)(CH_3)$	N-Acetylmethylcysteamin	133	0,0%	$2{,}26\times10^{-2}$

Tabelle 2.

Nr.	Behandlung Geschlecht Gewicht	Tiere/ Gruppe	% überlebender Tiere nach 48 Std $\pm \sigma_x$	P (Bemerkungen)
1.	5 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p. weibl. 140—160 g	20	55,0 ± 11,1%	
2.	7 γ/g α-Napthylthioharnstoff i.p. weibl. u. männl. 140—180 g	31	12,9 ± 6,0%	P = <0,01
3.	1 mg/g l-Cystein i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p. weibl. u. männl. 140—160 g	40	95,0 ± 3,4%	P_{2-3} = <0,01
4.	0,5 mg/g l-Cystein i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p. weibl. 140—150 g	20	40,0 ± 11,0%	P_{2-4} = 0,02 P_{3-4} = <0,01
5.	15 mg/Tier Cysteamin i.p. n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p. weibl. 120—140 g	20	100,0%	P_{2-5} = <0,01
6.	8,87 mg/Tier N-Monomethylcysteamin i.p. n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p. weibl. 120—140 g	20	60,0 ± 11,0%	Dosis= äquimol. 7,5 mg Cysteam. P_{3-6} = <0,01 P_{2-6} = <0,01
7.	7 mg/Tier N-Dimethylcysteamin i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p., weibl. 120 bis 150 g	20	100,0%	P_{2-7} = <0,01
8.	3,5 mg/Tier N-Dimethylcysteamin i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p., weibl. 140—150 g	20	15,0 ± 8,0%	P_{2-8} = 0,83 P_{7-8} = <0,01
9.	7 mg/Tier N-Diäthylcysteamin i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p., männl. 120 bis 140 g	20	90,0 ± 6,7%	P_{2-9} = <0,01 P_{3-9} = 0,5
10.	23,2 mg/Tier N-Acetylcysteamin i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p., weibl. u. männl. 140—180 g	22	36,4 ± 10,8%	Dosis=äquimol. 15 mg Cysteam. höh. Do. tox. P_{2-10}= 0,05 P_{4-10}= 0,80
11.	25,5 mg/Tier N-Acetylmethylcysteamin i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p., weibl. 120—160 g	20	25,0 ± 9,7%	Dosis=äquimol. 15 mg Cysteam. P_{2-11}= 0,3 P_{4-11}= 0,3
12.	1 mg/g dl-Homocystein i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthylthioharnstoff i.p., weibl. 120 bis 160 g	20	65,0 ± 10,7%	P_{2-12}= <0,01 P_{3-12}= <0,01

Tabelle 2. (Fortsetzung.)

Nr.	Behandlung Geschlecht Gewicht	Tiere/ Gruppe	% überlebender Tiere nach 48 Std $\pm \sigma_x$	P (Bemerkungen)
13.	1 mg/g dl-Isocystein i.p., n. 15 min 7 γ/g α-Naphthyl-thioharnstoff i.p., weibl. 120 bis 160 g	11	0,0	tiefe Narkose bis zum Tod.

i.p. = intraperitoneale Injektion; z. B. $P_{2-12} = P$ für die Differenz zwischen 2. und 12. Versuch.

Dosis von 7 mg/Tier Dimethyl- oder Diäthylcysteamin die untere Grenze.

Wird an Stelle einer Alkylierung des Aminostickstoffes eine Acetylierung vorgenommen, so verschwindet die Schutzwirkung vollkommen. N-Acetylmethylcysteamin besitzt auch keinen Strahlenschutzeffekt; dagegen konnten wir ursprünglich einen solchen beim N-Acetylcysteamin beobachten. Hier weichen die Beobachtungen zwischen der Strahlenschutzwirkung und derjenigen bei der „SH-Blocker"-Vergiftung voneinander ab. Eine Steigerung der Dosis ist bei beiden Körpern nicht möglich, da man in den letalen Bereich gelangt. Die gewählten Dosen entsprechen äquimolaren Mengen von 15 mg Cysteamin.

Wenn Isocystein keinen Schutz gegenüber toxischen Gaben von α-Naphthylthioharnstoff verleiht, so entspricht das seinem Verhalten im Strahlenschutzversuch. Die Substanz stand uns nur in sehr geringer Menge zur Verfügung, so daß lediglich 11 Tiere in den Versuch genommen werden konnten. In allen 11 Fällen verlief das Vergiftungsbild mit der tiefen Somnolenz der Ratten bis zum Tode entsprechend dem Bild der α-Naphthylthioharnstoffintoxikation. Die vorherige Gabe von Isocystein war also vollkommen wirkungslos. Es muß berücksichtigt werden, daß das Isocystein als dl-Form vorlag. Nimmt man an, daß nur die eine optische Isomere wirksam wird, so liegt die Dosis bei 0,5 mg/g und damit müßte sich natürlich der Schutzeffekt verringern. Jedoch sahen wir auch noch bei 0,5 mg/g l-Cystein eine deutliche Wirkung und der entsprechende Versuch mit dl-Homocystein beweist gleichfalls, daß das Isocystein als unwirksamer Körper zu betrachten ist.

Wie Cystein und Cysteamin, so tritt auch Homocystein im Bestrahlungsversuch und bei der Vergiftung mit α-Naphthylthioharnstoff als Schutzstoff auf. 1 mg/g dl-Homocystein wirkt dabei nicht so intensiv wie die entsprechende Menge l-Cystein, aber doch stärker als 0,5 mg/g l-Cystein, was seinem Anteil an l-Form äquivalent wäre. Sein Verhalten findet eine Erklärung in der biologischen Aktivität des d-Homocystein (Lang; Wretlind u. Rose; Krebs).

Das Vergiftungsbild nach α-Naphthylthioharnstoff ist sehr wenig charakteristisch. Kurz nach der Injektion (5—10 min) tritt bei den Ratten ein Dämmerschlaf ein, der sich erst, wenn die Tiere überleben, nach etwa 5 Std langsam zurückbildet. Ganz im Gegensatz zu den Mäusen fehlen die zentralen Erregungsbilder zusammen mit den typischen Störungen des Atemzentrums. Im Falle der Schutzwirkung verkürzt sich der zeitliche Ablauf des Dämmerschlafes. Eine Ausnahme machen die mit N-Dimethylcysteamin vorbehandelten Tiere. Sie bleiben wach. Etwa 10 min post injectionem treten sogar leichte epileptiforme Krämpfe oder wenigstens eine deutliche Krampfbereitschaft auf. Die Erscheinungen bilden sich aber schnell wieder zurück.

Die vorliegenden Beobachtungen zusammen mit denen im Strahlenschutzversuch waren für uns Veranlassung, noch quantitative und qualitative toxikologische Untersuchungen in dieser Stoffklasse der „Cysteaminabkömmlinge" durchzuführen.

Toxikologie des Cysteamin und seiner Derivate.

Zur Orientierung für die zu wählende Dosierung im Strahlenschutzversuch hatten wir uns einer von Weil angegebenen Methode zur Bestimmung der DL 50 bedient. Die damit gefundenen Werte für Cysteamin und Dimethylcysteamin haben wir [Langendorff u. Mitarb., (1)] bei der Darstellung der Strahlenschutzversuche angegeben. Sie liegen zu hoch. Wir konnten uns inzwischen überzeugen, daß die Bestimmung nach Weil keine brauchbaren Ergebnisse liefert. Die im folgenden beschriebenen Bestimmungen der DL 50 erfolgten nach der Methode von Behrens u. Kärber an weiblichen und männlichen Mäusen eines institutseigenen Inzuchtstammes. Die angegebenen Daten beziehen sich in jedem Fall auf die reine Base und niemals auf das Hydrochlorid, das meist Verwendung fand. In allen Fällen wurden die Substanzen subcutan injiziert. Registriert wurde der Tod innerhalb der ersten 24 Std post injectionem. Die überlebenden Tiere wurden noch einige Tage nachbeobachtet, um festzustellen, ob der Tod eventuell zu einem späteren Zeitpunkt eintrat. Das war jedoch bei keiner der untersuchten Substanzen der Fall. Bei der Festlegung der oberen bzw. unteren Grenzdosis, d. h. jener bei der alle oder kein Tier der Gruppe mehr starb, wurde sorgfältig vorgegangen. Nächsthöhere oder -tiefere Dosen dienten als Sicherung dieser Punkte. Wir geben diese eindeutig festgelegten Punkte als „minimale" bzw. „absolut letale" Dosis an, weil sich aus der Größe dieses Subletalbereiches zusammen mit der DL 50 ein viel eindrucksvolleres Bild des toxikologischen Verhaltens ergibt. Aus denselben Gründen wird auch die logarithmische Differenz zwischen den einzelnen Testpunkten angegeben. — Wir glauben, daß unter Berücksichtigung dieser Angaben, das von Behrens u. Kärber angegebene Verfahren immer noch zu den zuverlässigsten gehört.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen haben wir in Tab. 3 zusammengestellt. Im ersten Teil finden sich die Angaben über Cysteamin, Cystamin und N-substituierte Derivate, im zweiten sind vergleichsweise einige entsprechende Aminoalkohole aufgeführt.

Betrachtet man zunächst im ersten Teil die Werte für die DL 50 in Milligramm/Kilogramm, so zeigen sich keine besonders auffälligen

Unterschiede zwischen den Substanzen. Diese treten erst hervor, wenn man die Dosis in Millimol/Kilogramm ausdrückt. Allerdings darf diese Betrachtung beim Vergleich zwischen Cysteamin und Cystamin nicht herangezogen werden, da Cystamin in der Leber sehr schnell zu 2 Molen Cysteamin gespalten wird. Wenn wir nicht ganz übereinstimmende Werte gefunden haben, so ist zu berücksichtigen, daß das Cystamin um ein klein wenig wirksamer ist als Cysteamin. Wir finden dieselbe Differenz auch beim Vergleich der beiden Strahlenschutzeffekte (Tab. 1).

Die zunehmende Alkylierung des Aminostickstoffes sowohl des Cysteamins als auch des Äthanolamins bewirkt eine steigende Giftigkeit dieser Körper. Auffälligerweise ist das Diäthylderivat beim Cysteamin am giftigsten und damit auch quantitativ am wirksamsten im Strahlenschutzversuch, während es bei den Aminoalkoholen die Dimethylgruppierung ist. Man sieht, wie schwierig es ist, schon bei 2 derartig benachbarten Reihen Vergleichsschlüsse im Sinne von Konstitution und Wirkung zu ziehen.

Die Acetylierung des Cysteamins zum N-Acetylcysteamin bedingt molar keinen Unterschied. Wird dagegen der restliche Wasserstoff am Stickstoff des Acetylcysteamins durch eine Methylgruppe ersetzt, so kommt es zu einer Zunahme der Giftigkeit, die weit über das Maß beim N-Monomethylcysteamin hinausgeht. Es ist schwierig, hierfür eine Erklärung zu finden, genau wie für das Versagen dieses Körpers sowohl im Strahlenschutz- als auch α-Naphthylthioharnstoffversuch.

So wie sich im quantitativ-toxikologischen Verhalten eine Abstufung zwischen dem Cysteamin und seinen N-Alkylderivaten, entsprechend Äthanolamin und Alkylaminoäthanolen, findet, beobachtet man eine übereinstimmende Reaktion im Vergiftungsbild. Es handelt sich um die Wirkung auf das ZNS. Im folgenden werden die Vergiftungsbilder der Substanzen beschrieben:

1. Cysteamin. Eintritt des Todes im subletalen Bereich 30—60 min post injectionem. Zunächst nach der (s.c.) Applikation ruhiges Verhalten der Tiere, allmählich zunehmende Tachypnoe. 10—20 min später unruhiges Umherkriechen, Hochspringen und starke Tachypnoe. Bei Berührung heftiger allgemeiner Körpertremor, dabei Umkippen und Verbleib in Seiten- bzw. Rückenlage. Plötzlich setzen kurze Springkrämpfe ein. Entweder klingt dieses Bild wieder ab oder es kommt zum schnellen Exitus mit agonalen kurzen Spring- und Laufkrämpfen (Atemlähmung?). Das ganze Vergiftungsbild stellt eine Diminuitivform desjenigen nach Dimethylcysteamin dar.

2. Cystamin. Eintritt des Todes im subletalen Bereich 30—120 min post injectionem. Das Vergiftungsbild entspricht fast annähernd dem des Cysteamins. Der dabei ausgelöste starke Tremor zeichnet sich als Intentionstremor ab, der schließlich auf jeden Reiz hin ausgelöst wird. Auffallend ist bei den Mäusen ein starkes Schwitzen und starke Salivation (Histaminfreisetzung?). Tod durch Atemlähmung in Lauf- und Springkrämpfen.

3. mono-Methylcysteamin. Eintritt des Todes im Letalbereich 15—90 min post injectionem, im subletalen Bereich nach 7—10 Std. Bei niedrigen Dosen, bei denen keines der Tiere stirbt, besteht eine starke Benommenheit. Im Letal- und Subletalbereich setzt 5 min nach der Injektion (s.c.) eine starke Tachypnoe, zunehmende Cyanose und Krampfbereitschaft bei bestehendem starken Intentions-

Tabelle 3.

Nr.	Substanz	DL 50 mg/kg	DL 50 mmol/kg	min letale mg/kg	absolute Dosis mg/kg	log.-Diff. d. Dosen	durchschnittliches Tiergewicht g	Gesamttierzahl	Tier/Gruppe
1.	Cysteamin	247 ± 11,5	3,21	167	377	0,0706	18—25	60	10 T./G.
2.	Cystamin	214,5 ± 6,5	1,41	139	281	0,0511	17—25	70	10 T./G.
3.	N-Monometh. cysteamin	261,9 ± 11,1	2,88	123,5	400	0,0511	18—30	110	10 T./G.
4.	N-Dimethyl-cysteamin	214 ± 10,6	2,04	123,5	356	0,0511	20—30	100	10 T./G.
5.	N-Diäthyl-cysteamin	120,5 ± 4,9	0,96	68	222	0,0511	18—26	110	10 T./G.
6.	N-Acetyl-cysteamin	369 ± 13,5	3,1	281	506	0,0511	19—25	60	10 T./G.
7.	N-Acetyl-methyl-cysteamin	233 ± 8,5	1,75	176	316	0,0511	19—30	60	10 T./G.
	Vergleichs-substanzen:								
1a	Äthanolamin	2537 ± 48	41,6	2098	2960	0,0187	19—22	117	9 T./G.
3a	Monomethyl-aminoäthanol	1802 ± 81	24,0	933	2689	0,0511	17—25	100	10 T./G.
4a	Dimethyl-aminoäthanol	961 ± 32	10,8	528	1352	0,0511	17—27	90	10 T./G.
5a	Diäthyl-aminoäthanol	1561 ± 40	13,34	1053	2190	0,0187	20—24	198	9 T./G.

tremor ein. Dabei sitzen die Mäuse in Spreizstellung der Hinterläufe (tonischer Krampf). Licht- und Schallreiz führen nicht zum Krampf, dagegen jede Auslösung des Fluchtreflexes: Lauf- und Springkrämpfe. Der Tod tritt häufig unauffällig ein, nur selten während des Krampfes (Atemlähmung?). Das ganze Bild ähnelt dem Vergiftungsbild des Dimethylcysteamins.

4. di-Methylcysteamin. Eintritt des Todes im Letalbereich frühestens 5 min, meist 30—180 min post injectionem, im subletalen Bereich noch nach 20—24 Std. Tachypnoe und Intentionstremor beherrschen das ganze Vergiftungsbild, wie es im wesentlichen bei 1.—3. beschrieben ist. Etwa 5—7 min post injectionem ist der Intentionstremor schon so ausgeprägt, daß jede geringste Bewegung ihn auslöst.

Die Tiere können nur noch ganz unkoordinierte Bewegungen ausführen. Das Bild ist am besten als Zitterkrampf zu charakterisieren. In diesem Zustand sterben die Tiere an einer zentralen Atemlähmung. Im Subletalbereich tritt der Tod auch ohne Krampf durch Atemlähmung ein.

5. di-Äthylcysteamin. Eintritt des Todes im Letalbereich 5—15 min post injectionem, im subletalen Bereich 30—120 min. Das Vergiftungsbild entspricht in allen wesentlichen Zügen dem des Dimethylcysteamins. Es ist vielleicht mit seinem Intentionstremor und Zitterkrampf noch ausgeprägter. Im subletalen Bereich überwiegt dagegen das Bild einer zentralen Dämpfung. Die Tiere sterben ohne Krämpfe oder irgendwelche Erscheinungen eines Tremors an einer zentralen Atemlähmung. Dabei sind sie vorher tief somnolent. — In der Erholungsphase aller Tiere findet sich eine über Stunden andauernde Somnolenz mit fehlenden Fluchtreflexen und fehlender Reaktion auf Licht und Schall.

6. Acetylmethylcysteamin. Eintritt des Todes 30—300 min post injectionem. Kurzzeitige Erregung nach der Injektion (s. c., schmerzhaft), schnell einsetzende Tachypnoe. Etwa 1—2 Std später findet sich ein hochgradiger Spasmus in den hinteren Extremitäten (Spreizstellung), der periodisch unterbrochen wird durch einen heftigen Tremor. Dieser geht in kurzdauernde tonisch-klonische Springkrämpfe über. Bei dem Tremor handelt es sich nicht um einen Intentionstremor mit Hyperreflexie auf Licht, Schall oder mechanischen Reiz. Der Fluchtreflex bleibt lange Zeit normal. Charakteristisch ist die Stellung des Schwanzes, der steif und halbhoch gehalten wird (Morphinschwanz). Im subtoxischen Bereich tritt die Erholung etwa 3½ Std nach der Injektion ein.

7. Acetylcysteamin. Eintritt des Todes 1—20 Std post injectionem. Kurzzeitige Erregung nach der Injection (s.c., schmerzhaft), schnell einsetzende Tachypnoe. Etwa 1 Std später Intentionstremor, der auf Reiz oder Willensbewegung hin sich zu ungeordneten, krampfartigen Laufbewegungen entwickelt. Tod in einer solchen Krampfphase.

Die aufgeführten Vergiftungsbilder haben alle die zentrale Erregung gemeinsam. Ihr Grad ist abhängig von der Substitution am Aminostickstoff. Es folgen Hinweise auf das toxikologische Verhalten der in Tabelle 3 herangezogenen Aminoalkohole:

1a. Äthanolamin. Eintritt des Todes 1—20 Std post injectionem. Die Tiere verhalten sich ruhig und unauffällig bis zum Tod, lediglich vertiefte Atmung.

3a. mono-Methylaminoäthanol. Eintritt des Todes 2—22 Std post injectionem. Anfangs sind die Tiere ruhig, mäßig beschleunigte Atmung. Einige Stunden später vertiefte konvulsivische Atmung, mittelgradige Cyanose. Es treten kurze tonisch-klonische Zuckungen auf, die aber mit dem Tod durch Lähmung des Atemzentrums nicht unmittelbar in Beziehung stehen.

4a. di-Methylaminoäthanol. Eintritt des Todes im Letalbereich 5—15 min post injectionem, im Subletalbereich nach 2—3 Std. Sehr charakteristisch ist die schnell einsetzende starke Cyanose, die auch lange bis in die Erholungszeit hinein bestehen bleibt. Tremor und Laufkrämpfe mit Betonung der hinteren Extremitäten, sowie Tod durch Atemlähmung entsprechen den Bildern der mono- bzw. di-Methylcysteaminintoxikation.

5a. di-Äthylaminoäthanol. Eintritt des Todes 5—25 min post injectionem. Etwa 5 min nach der Injektion treten typische tonisch-klonische Krämpfe auf. Es bildet sich eine Stoßatmung aus, in deren Gefolge der Tod eintritt (zentrale Atemlähmung). Wie beim Diäthylcysteamin so finden sich auch hier Tiere, die keinerlei zentrale Erregung zeigen.

Diskussion.

In Verbindung mit vorausgehenden Mäuseversuchen [Langendorff, Koch u. Hagen (3)] zeigen die vorliegenden Untersuchungen ein weitgehend analoges Verhalten der verschiedenen Sulfhydrylkörper im Schutzversuch gegenüber energiereicher Strahlung [Langendorff u. Mitarb. (1)] wie auch der α-Naphthylthioharnstoffvergiftung. Dabei wird in jedem Fall der Wirkungsgrad des Cysteamins erhöht, wenn der Aminostickstoff alkyliert ist. Dasselbe findet sich sowohl in quantitativen als auch qualitativen toxikologischen Untersuchungen dieser Körper.

Obgleich viele übereinstimmende Reaktionen vorliegen, darf nicht übersehen werden, daß in manchem auch Abweichungen vorkommen. Im Strahlenschutzversuch konnten wir im Gegensatz zu Straube u. Patt niemals eine größere Wirksamkeit des Cysteamins gegenüber Cystein beobachten. In den dargestellten Schutzversuchen und den entsprechenden an Mäusen bei einer Vergiftung mit α-Naphthylthioharnstoff tritt diese dagegen deutlich hervor. Genauso verhält es sich mit den toxikologischen Daten, wenn man die bekannte relativ geringe Giftigkeit des Cysteins heranzieht.

Monomethyl- und Diäthylcysteamin sind sowohl toxikologisch als auch im Strahlenschutzversuch besonders wirksam, zeigen aber nicht ganz dasselbe Verhalten im α-Naphthylthioharnstoffversuch. Noch mehr gilt das für N-Acetylcysteamin.

Toxikologisch wurde Cystamin schon einmal von Robbers untersucht. Seine Daten liegen etwas höher, doch beschreibt er das Vergiftungsbild sehr ähnlich, sowohl was die zentrale Komponente als auch die Atemlähmung anbetrifft: „Zuerst steht die Atmung still, während das Herz noch einige Minuten schlägt."

Da wir bei unseren Arbeiten auf dem vorliegenden Gebiet immer von der Frage ausgehen, mit Hilfe von Strahlenschutzsubstanzen und ihren biochemischen bzw. pharmakologischen Eigenschaften mehr über die Vorgänge während und nach einem Strahleninsult zu erfahren, ist noch auf eine andere Beobachtung hinzuweisen. Keineswegs sind die Vorgänge bei einer α-Naphthylthioharnstoffvergiftung gleichzusetzen mit denjenigen während oder nach einer Totalbestrahlung, z. B. mit Röntgenstrahlen. Wir wiesen nach, daß SH-Blocker wie α-Naphthylthioharnstoff, Alloxan, Dithizon oder Natrium-tetrathionat an totalbestrahlten Tieren keine Verstärkung des Strahlenschadens auslösen, was vielleicht in Analogie zur Gruppe der sogenannten Radiomimetica zu erwarten gewesen wäre [Langendorff u. Koch (2)]. Zweifellos haben aber beide Testreaktionen eines gemeinsam und damit gewinnen die Untersuchungen mit α-Naphthylthioharnstoff für unsere ursprüngliche Fragestellung an Bedeutung: *Die Spezifität der Schutzwirkung der „Cystein-Cysteamin-Gruppe"*.

Die Alkylierung des Aminostickstoffes des Cysteamins führt toxikologisch zu einer Wirkungssteigerung. Es liegt also der gleiche Vorgang wie bei den entsprechenden Derivaten des Aminoäthanols vor. Beiden gemeinsam ist auch die damit verbundene stärker zentralerregende Wirkung, auf die wir schon früher aufmerksam gemacht haben (Koch). Gleichzeitig führen sie über eine Störung des Atemzentrums zum Tode.

In diesem Zusammenhang ist auf Untersuchungen von Kubo zu verweisen, der mit steigender Alkylierung, Methyl —→ Butylamin, bei der Ratte eine zunehmende Verminderung des respiratorischen Quotienten sah. Inwieweit diese Vorgänge für den Strahlenschutzeffekt verantwortlich zu machen sind, ist eine Frage.

Della Bella u. Bacq beobachteten vor kurzem, daß Cysteamin eine das Acetylcholin und die Erregung des Vagus dämpfende Wirkung entfaltet. Robbers sah an der Katze eine Blutdrucksenkung. Wegen des sehr ähnlichen zentralen Vergiftungsbildes der tertiären Alkylaminoäthanole und der entsprechenden Cysteaminderivate ist darauf hinzuweisen, daß erstere häufig parasympathicomimetische Eigenschaften entwickeln (Guggenheim). Die Betrachtung der Strahlenschutzwirkung unter diesem Gesichtspunkt ist deshalb interessant, weil in neuester Zeit Burnett, Burke u. Upton einen Schutzeffekt nach Acetyl-β-methylcholin und Carbaminoylcholin (Doryl) sahen. Sie konnten feststellen, daß sich derselbe durch Atropin inhibieren ließ. An Hand ihrer Beobachtungen glauben sie, daß die durch die beiden Pharmaka hervorgerufene Hypoxämie für die Wirkung verantwortlich zu machen ist. In ähnlichem Sinne sind Morphin-Strahlenschutzversuche zu interpretieren (Andrews u. Liljegren).

Die schon angeführten Untersuchungen von Robbers eröffnen die Möglichkeit, das Vorhandensein einer Hypoxämie nach Cysteamin oder Cystamin auch kreislaufdynamisch zu erklären. In diesem Sinne spricht das von ihm gemessene Ansteigen der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz.

Sauerstoffmangel bedeutet in jedem Fall, sei es Pflanze oder Tier, eine Erhöhung der Strahlenresistenz gegenüber weniger dicht ionisierenden Strahlen. Diese Erkenntnis ist seit den Versuchen von Holthusen ein Grundpfeiler der Radiobiologie.

Haley u. Mitarb. untersuchten die alleinige Wirkung von Atropin, Tetraäthylammoniumbromid, Dibenamin und Nicotin an röntgentotalbestrahlten Ratten. Es zeigte sich bis auf Atropin kein Effekt. Die atropinisierten Tiere wiesen dagegen eine höhere Strahlensensibilität auf. Der Befund ist zunächst mit dem von Burnett, Burke u. Upton nicht in Übereinstimmung zu bringen.

Die dargelegten experimentellen Beobachtungen zusammen mit früheren geben Veranlassung, den pharmakologischen Eigenschaften der bisher bekannten Strahlenschutzsubstanzen größte Aufmerksamkeit zu widmen. Es ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß z. B. die Körper der „Cystein-Cysteamin-Gruppe" über eine Wirkung auf das Atemzentrum und kreislaufdynamische Veränderungen eine Hypoxie erzeugen, die als Erklärung für einen Strahlenschutzeffekt ausreichen würde. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die zur Erzielung einer Strahlenschutzwirkung notwendigen Dosen der Substanzen auffallend hoch liegen und daß sie unwirksam sind, wenn eine Bestrahlung mit dicht-ionisierender Strahlung (α-, β- oder Neutronenstrahlung)

erfolgt. In diesem Fall spielt die Gegenwart von Sauerstoff nämlich keine Rolle mehr. Versuche von Salerno u. Friedell in letzter Zeit weisen in die gleiche Richtung. Bisher wurden viel zu einseitig nur biochemische Fragen erörtert. Dasselbe gilt vielleicht auch für die α-Naphthylthioharnstoffvergiftung.

Zusammenfassung.

In Fortsetzung früherer Versuche an Mäusen wird gezeigt, daß die Vorbehandlung von Ratten mit l-Cystein, dl-Homocystein, Cysteamin, N-Methyl-, N-Dimethyl- oder N-Diäthylcysteamin die toxische Wirkung einer nachfolgenden α-Naphthylthioharnstoffgabe aufhebt. Nur angedeutet wirksam ist N-Acetylcysteamin, unwirksam N-Acetylmethylcysteamin und dl-Isocystein.

Es ergibt sich eine gewisse, wenn auch nicht vollständige Parallele zu Schutzversuchen an röntgentotalbestrahlten Tieren. Für beide Arten von Schutzversuchen ist die aufgeführte Stoffklasse in der Reihe der Sulfhydrylkörper spezifisch.

Die Wirksamkeit der Cysteaminverbindungen nimmt mit steigender tertiärer Alkylierung des Stickstoffes zu, entsprechend auch ihre Toxicität. Hier besteht ein gleiches Verhalten wie bei den Aminoäthanolen.

Die DL 50 dieser Körper wird bestimmt und ihre Vergiftungsbilder beschrieben. Der Pharmakologie sogenannter Strahlenschutzstoffe sollte mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Die Untersuchungen wurden in dankenswerter Weise durch die Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht.

Herrn Dr. Kolonko und Dr. Blumenfeld (Chem. Abt. d. Heiligenberg-Inst.; Leiter: Prof. Dr. Schöller) möchten wir herzlich danken für das überlassene dl-Isocystein und N-Acetylmethylcysteamin.

Literatur.

Abderhalden, E.: Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. **1**, 241 (1947). — Andrews, H. L., and E. J. Liljegren: Radiat. Res. **1**, 487 (1954). — Bacq, Z. M., et A. Hervé: (1) Bull. Acad. roy. Méd. Belg. Sér. VI, **17**, 13 (1952). — (2) Strahlenther. **95**, 215 (1954). — Barron, E. S. G.: Texas Rep. Biol. a. Med. **11**, 654 (1953). — Behrens, B., u. G. Kärber: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 379 (1935). — Burnett, W. T., jr., A. W. Burke jr. and A. C. Upton: Amer. J. Physiol. **174**, 254 (1953). — DuBois, K. P., L. W. Holm and W. L. Doyle: J. Pharmacol. Exper. Ther. **87**, 53 (1946). — Della Bella, D., u. Z. M. Bacq: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 366 (1953). — Errera, M.: Symposium on Radiobiology. Lüttich 1954, AD 56. — Gilman, A., F. S. Philips, E. S. Koelle, R. P. Allen and E. St. John: Amer. J. Physiol. **147**, 115 (1947). — Gray, L. H.: Acta radiol. (Stockh.) **41**, 63 (1954). — Guggenheim, M.: Die biogenen Amine. Basel/New York: S. Karger 1951. — Haley, Th. J., L. E. Detrick, B. Rhodes and V. Debley: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **42**, 296 (1953). — Harvey, Th. S., H. J. Tatum and S. Himmelfarb: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **90**, 348 (1947). — Hervé, A., et Z. M. Bacq: J. belge. Radiol. **35**, 524 (1952). — Holthusen, H.: Pflügers Arch. **187**, 1 (1921). — Koch, R.: Arzneimittelforsch. **4**, 649 (1954). —

Krebs, H. A.: Biochemie. J. **29**, 1620 (1935). — Kubo, T.: Mitt. med. Akad. Kioto **3**, 212, 219 (1929). — Langendorff, H., R. Koch u. U. Hagen: (1) Strahlenther. **95**, 238 (1954). — Langendorff, H., u. R. Koch: (2) Strahlenther. **95**, 535 (1954). — Langendorff, H., R. Koch u. U. Hagen: (3) Arch. internat. Pharmacodynamie **100**, 1 (1954). — Lang, K.: Der intermediäre Stoffwechsel. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1952, p. 218. — Lazarow, A.: (1) Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **61**, 441 (1946); (2) **66**, 4 (1947). — Patt, H. M., E. B. Tyree, R. L. Straube and D. E. Smith: (1) Science (Lancaster, Pa.) **110**, 213 (1949). — (2) Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **73**, 18 (1950). — Patterson, J. W., A. Lazarow and St. Levey: J. of Biol. Chem. **177**, 197 (1949). — Robbers, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **185**, 461 (1937). — Salerno, P. R., and H. L. Friedell: Radiat. Res. **1**, 559 (1954). — Straube, R. L., and H. M. Patt: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **84**, 702 (1953). — Weil, C. S.: Biometrics (Washington) **8**, 249 (1952). — Wretlind, K. A. J., and W. C. Rose: J. of Biol. Chem. **187**, 697 (1950).

Dr. R. Koch, Biophysikal. Abteilung des Heiligenberg-Institutes, Heiligenberg/Baden.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 442—452 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Knoll A.-G., Ludwigshafen a. Rh.
(Leiter: Professor Dr. H. Haas).

Vergleichende Untersuchungen über Analgetica*.

Von
H. Haas.

(Eingegangen am 19. Februar 1955.)

Zwischen der analgetischen Wirksamkeit und der dämpfenden Wirkung auf die Atmung besteht beim Morphin und bei allen aus Morphin gewonnenen halbsynthetischen Derivaten sowie bei den neuen synthetischen Analgetica offensichtlich innerhalb eines bestimmten Dosierungsbereiches ein weitgehender Zusammenhang (Schaumann). Nach den Feststellungen von Eichholtz und eigenen Befunden (Haas) ergeben sich bei allen untersuchten Substanzen dieser Reihe etwa gleichlautende Zahlenwerte, wenn man den Quotienten aus analgetischer zu atemschädigender Dosis errechnet.

Schaumann nimmt an, daß auch die Beeinflussung des Hustenreizes ungefähr mit dem analgetischen und atemhemmenden Effekt parallel geht, obwohl zweifellos der Hustenreflex von der Regulation der normalen Atmung unabhängig ist, wie schon der völlig andersgeartete Auslösungsmechanismus zeigt. Gegen diese Auffassung von Schaumann läßt sich jedoch anführen, daß N-Allylnormorphin zwar fast allen zentral angreifenden Analgetica in ihren hauptsächlichen Einflußbereichen entgegenwirken kann, aber ihre hustenstillende Wirkung *synergistisch* beeinflußt (Winter). Zwischen dem schmerzlindernden Effekt und der Hemmung des Hustenreflexes fehlt demnach hier jeglicher nachweisbare Zusammenhang. Das gleiche beobachtete Eichler, der für Cardiazol nachwies, daß es die hustendämpfende Wirkung von Dicodid nicht aufzuheben vermag, während es der durch Dicodid verursachten Atemstörung entgegengerichtet ist. Das unter Dicodid-Wirkung stehende Husten- und das Atemzentrum werden also durch Cardiazol ebenfalls nicht gleichsinnig beeinflußt.

Da schon die Untersuchung der Gesetzmäßigkeiten bei einer einzigen pharmakologischen Reaktion innerhalb des komplizierten Warmblüterorganismus häufig durch zahlreiche konkurrierende und interferierende Vorgänge beeinflußt wird, müssen die Fehlermöglichkeiten zwangsläufig mit der Ausweitung der Reaktionsbedingungen durch die Einbeziehung eines zweiten Pharmakons zunehmen, wenn nicht eine quantitative Auswertungsmethode zur Verfügung steht, die eine exakte, statistische

* Herrn Professor F. Eichholtz zum 65. Geburtstag gewidmet.

Analyse der Dosis-Wirkungsbeziehungen gestattet. Aus diesem Grunde kann oft eine einfache Versuchsanordnung, die auf eine Alternativreaktion zwischen 2 antagonistisch wirkenden Pharmaka verzichtet, eher zu übersehbaren und damit eindeutigen Resultaten führen. Trotz zahlreicher Arbeiten, die sich mit einer vergleichenden Prüfung der hustenstillenden Mittel an Tier und Mensch befassen, sind uns aus der Literatur keine Angaben bekanntgeworden, aus denen zu entnehmen ist, welche Dosen von Morphin bzw. anderen morphinähnlich wirkenden Analgetica unter etwa gleichartigen Versuchsbedingungen eine Aufhebung des Hustenreflexes sowie eine sicher nachweisbare Störung der Atemfunktion setzen.

Für die Auswertung von Hustenmitteln bedient man sich verschiedener Verfahren. Vielfach wird der Hustenstoß durch chemische Reizmittel hervorgerufen. So lassen Eichler, Winter, Harrison und Pellmont sowie May und Friebel Schwefelsäure- bzw. Schwefeldioxyd- oder Ammoniaknebel einatmen und erzielen auf diese Weise bei Meerschweinchen, Hunden und Katzen einen Hustenreiz. Dieses Verfahren ist auf den Menschen übertragbar, wie die Versuche von Höglund und Trendelenburg mit Ammoniakluftgemischen beweisen. Weiterhin kann man durch i.v. Injektion von Lobelin einen kurzen Hustenstoß bewirken und diesen als Test für die Untersuchung von Hustenmitteln benutzen (Hillis und Eckenhoff). Kroepfli bläst Katzen kleine Mengen eines Waschpulvers auf die Bifurkation der Trachea und löst mit diesem mechanisch-chemischen Reiz einen Hustenstoß aus. Ein weiteres Verfahren stammt von Ernst, der Katzen 30%ige Lugolsche Lösung i.v. injiziert und die Tiere damit in einen Zustand der Hustenbereitschaft versetzt. Der Hustenstoß selbst wird bei diesem Vorgehen durch Kneifen der Trachea ausgelöst. Konzett und May beschränken sich auf eine mechanische Reizung der Luftröhrenschleimhaut mit einer Feder oder einem Katheter. Außerdem kann man Husten künstlich mit elektrischen Stromstößen erzielen. Am nichtnarkotisierten Tier beschreiben Schroeder, Bobb, Stefko u. Benson verschiedene Verfahren. Domenjoz arbeitet an leicht narkotisierten Katzen mit Reizung des operativ freigelegten N. laryngeus, eine Methode, die sich nach den Beobachtungen von Toner und eigenen Versuchen für die vergleichende Prüfung verschiedener Analgetica ebenfalls brauchbar erweist.

Methodik.

In Anlehnung an das von Domenjoz entwickelte Verfahren erhielten die Katzen für die quantitative Auswertung der hustenstillenden Wirkung Numal i.p. in einer Dosis von 60 mg/kg. Zur Reizung des N. laryngeus wurden die Elektroden beweglich montiert. Die Reizung erfolgte mit einer Serie von Rechteckstößen konstanter Dauer (pro Einzelimpuls 10 millisec) und gleichbleibender Frequenz (60/min) mit dem von Netheler, Magun u. Soehring beschriebenen Impulsgenerator bei Anpassung der Stromstärke an die Empfindlichkeit des Einzeltieres. Insgesamt betrug die Reizdauer jeweils 5—10 sec. Das Zeitintervall zwischen 2 Reizen lag bei 3 min vor der Verabreichung der einzelnen Prüfsubstanzen, die i.v. mit einer Injektionsgeschwindigkeit von 1 cm^3/min zugeführt wurden. Mit der Auswertung des hustenstillenden Effektes wurde 5 min nach der Injektion der verschiedenen Stoffe begonnen. Alle weiteren Reize wurden ebenfalls in Abständen von 3 min gesetzt. Die Registrierung des Hustenstoßes erfolgte über eine Mareysche Kapsel, die mit einer per os bis an den Larynx herangeführten Kanüle verbunden war.

Die Registrierung der Atemfrequenz und des Atemvolumens wurde ebenfalls an Katzen in Numal-Narkose (60 mg/kg i.p.) über eine Marey-Kapsel bzw. über eine Gasuhr vorgenommen, die über Kontakte bei jedem Exspirationsstoß bzw.

nach Ausatmung von 0,05 Liter Luft je einen Stromkreis schließen. Dadurch wird jeweils ein Elektromagnet betätigt, welcher eine senkrecht stehende gleichmäßig gezähnte Stange um eine gleichgroße Wegstrecke hebt. Diese Zahnstange wird durch eine Sperrvorrichtung auf dem jeweils erreichten Niveau arretiert und bleibt auf dieser Höhe stehen, bis sie durch einen weiteren Stromstoß erneut um einen Zahn nach oben bewegt wird. Auf der berußten Trommel erhält man infolgedessen kurze, treppenförmig ansteigende Absätze, die bei genügend langsamer Rotation fast mit einer Geraden zusammenfallen. Ein zweiter Stromkreis, der über eine Kontaktuhr geschlossen bzw. von einer rotierenden Scheibe gesteuert wird, die mit dem Motor des Kymographions gekuppelt ist, betätigt einen weiteren Elektromagneten, durch den die Arretierung der Zahnstange gelöst wird, so daß sie durch ihr Eigengewicht rasch bis zur Nullinie abfällt. Im Ordinatenschreiber ist diese Anordnung 2fach enthalten. Zusätzlich kann man manuell über den Drücker die Zahnstange beliebig auf ihre Ausgangsstellung zurückbringen. Gleichzeitig gestattet diese Vorrichtung, den Abstand zwischen dem Kontaktarm und dem Magneten zu variieren, und sie enthält zudem eine Führung für den Kontakt.

Der Apparat registriert auf diese Weise automatisch auf der Ordinate die Summe der in der Zeiteinheit stattfindenden Exspirationsstöße bzw. die Größe des Ausatmungsvolumens, bezogen auf die Abszisse Zeit. Die Zeitintervalle betrugen bei der Messung der Atemfrequenz 30 sec und bei der Registrierung des Atemvolumens 1 min. In Verbindung mit einer Eichung der Kurven auf je 5 Atemzüge bzw. 250 cm^3 Exspirationsluft kann man aus den Kurven die Höhe der Atemfrequenz bzw. die Größe des Atemvolumens pro Minute und ihre Beeinflussung durch Pharmaka direkt ablesen. Trotz der einfachen Anordnung arbeitet der Apparat fehlerfrei. Rothlin, der sich eines ähnlichen Prinzips für die Registrierung von Flüssigkeitsmengen bediente, betont schon die hohe Leistungsfähigkeit einer derartigen Technik, die zudem aus der Kurvenform ohne zeitraubende Berechnung die quantitativen Werte über die Wirkungsintensität und Wirkdauer ablesen läßt.

Die Messung der Analgesie erfolgte an der Maus unter Verwendung von Wärme- bzw. elektrischen Reizen. Die methodischen Einzelheiten sind bereits mehrfach beschrieben (Haas, Kraushaar). In den Tabellen ist lediglich die Anzahl der Tiere in Prozent angegeben, die nach Zufuhr der einzelnen Prüfsubstanzen den Wärmereiz doppelt so lange als ohne Vorbehandlung reaktionslos aushalten bzw. die doppelte Stromstärke als im Vorversuch ertragen, ohne mit einer Schmerzäußerung in Form eines synchron mit der Reizung erfolgenden Piepstones zu antworten. Für jede Dosis wurden 10 bzw. 20 Tiere eingesetzt. Injiziert wurde s.c. Die Messung der Reaktionsfähigkeit der Tiere auf Wärme- und elektrische Reize wurde jeweils 15 und 30 min nach der Zufuhr der Prüfsubstanzen vorgenommen. Innerhalb dieses Zeitraumes wird im allgemeinen das Maximum der Wirkung für die Substanzen der Morphinreihe erreicht, wie aus früheren Versuchen zu entnehmen ist (Haas), so daß aus den erhaltenen Werten die Stufenfolge der Wirksamkeit für die einzelnen Präparate mit genügender Sicherheit abzulesen ist. In den Tabellen sind die Resultate aus beiden Messungen — als Mittelwert berechnet — in Prozent der Gesamtzahl der eingesetzten Tiere angegeben.

Versuchsergebnisse.

Hustenreflex und Atmung.

Ein hustenstillender Effekt ist als gesichert anzusehen, wenn bei 50% oder mehr der Tiere nach der Zufuhr der einzelnen Prüfsubstanzen eine vollständige Unterdrückung des Hustenreflexes für mindestens 3 aufeinanderfolgende Reize stattfindet. Dieses Ergebnis ist in der Tabelle

Tabelle 1.

	Katze: Dosis mg/kg	Hustenreflex			Hemmung in %	
		unbeeinflußt	deutlich abgeschwächt	aufgehoben	Atemfrequenz	Atemvolumen
Morphin	0,1	2	1	—		
	0,25	1	1	2		
	0,5	—	—	3		
	1,0				35	20
	2,0				51	40
	2,5				50	48
Codein	0,3	3	—	—		
	0,6	3	1	—		
	1,0	1	2	—		
	2,0	—	3	2		
	3,0	—	—	3	16	12
	5,0				46	52
Paracodin (Dihydrocodein)	0,6	3	—	—		
	1,0	1	2	—	12	15
	1,5	2	2	—		
	2,0	—	—	3	8	21
	3,0				33	37
	4,0				50	60
Dicodid (Dihydrocodeinon)	0,05	3	—	—		
	0,1	1	2	1		
	0,2	1	1	2		
	0,3	—	—	3		
	0,5				14	23
	1,0				30	32
	2,0				42	41
	3,0				48	60
Dilaudid (Dihydromorphinon)	0,01	3	—	—		
	0,025	2	2	1		
	0,05	—	1	3		
	0,1				13	12
	0,2				51	51
Laevorphan	0,05	3	—	—		
	0,1	—	—	3	9	4
	0,2				31	57
	0,3				53	56
Pethidin	0,25	3	—	—		
	0,5	—	3	—		
	1,0	—	—	3	15	21
	3,0				31	49
	4,0				49	51

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

	Katze: Dosis mg/kg	Hustenreflex			Hemmung in %	
		unbeeinflußt	deutlich abgeschwächt	aufgehoben	Atemfrequenz	Atemvolumen
Methadon	0,05	3	—	—		
	0,1	2	1	1		
	0,2	—	3	—		
	0,3	—	—	3	14	17
	0,5				30	51
	1,0				56	65
Narkotin	1,0	3	—	—	0	0
	2,0	4	—	—		
	3,0	—	1	3	+ 8	+ 15
	5,0				+ 24	+ 12
	10,0				0	0

durch die Rubrik „Hustenreflex aufgehoben" eingesetzt. Außerdem ist der Tab. 1 zu entnehmen, in welchem Umfang die einzelnen Analgetica auf Atemfrequenz und Atemvolumen einwirken. Die Zahlenangaben beziehen sich jeweils auf 3—4 Einzelversuche und sind in Prozent des Ausgangswertes vor der Zufuhr der untersuchten Substanzen berechnet.

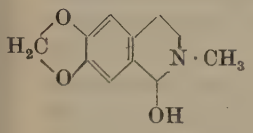
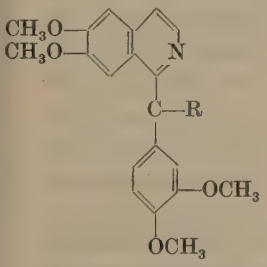
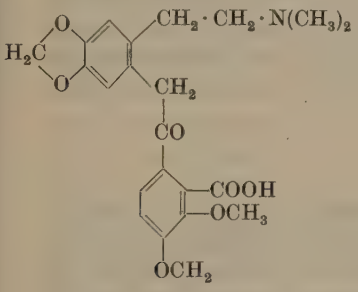
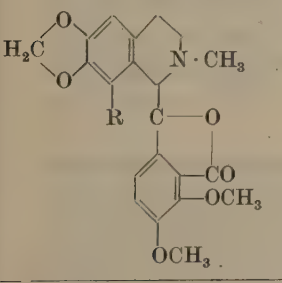
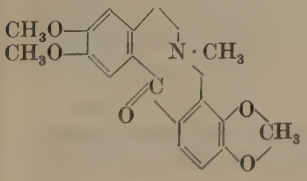
Unsere Schwellenwerte für den hustenstillenden Effekt der Analgetica liegen etwa in der gleichen Größenordnung wie die anderer Untersucher.

Kroepfli, Domenjoz, May u. Widdicombe sowie Ernst, die ebenfalls an Katzen arbeiteten, geben an, daß Morphin in Dosen von 0,25—0,5 mg/kg den Husten nachweisbar zu unterdrücken vermag. Eichler u. Smiatek sowie Winter u. Flataker fanden bei der Untersuchung an Meerschweinchen und Hunden 1,0 mg/kg Morphin sicher wirksam, und Stefko u. Benson erreichten mit 2,0 mg/kg, Friebel sogar erst mit 4 mg/kg eine einwandfreie Hustenstillung.

Für Codein liegen vergleichbare Ergebnisse von Konzett u. Rothlin, Winter u. Flataker, Domenjoz, Stefko u. Benson sowie Toner u. Macko vor, die 1,0 mg/kg als untere wirksame Grenzschwellendosis bezeichnen. Pellmont u. Bächtold benötigen bei der Benutzung verschiedener Untersuchungstechniken 1,5—3,5 mg/kg Codein. Ernst erzielte übereinstimmend mit den eigenen Befunden durch 3 mg/kg einen sicheren hustenstillenden Effekt, und May u. Widdicombe mußten sogar noch höhere Dosen einsetzen. Beim Methadon läßt sich nach den Untersuchungen von Schroeder nach der Zufuhr von 0,25 mg/kg der Hustenreflex nicht mehr auslösen. Toner u. Macko sowie Domenjoz haben sogar mit 0,1—0,15 mg/kg Methadon eine komplette Hemmung des Hustenmechanismus erzielt. Für Laevorphan bieten die Befunde von Benson, Stefko u. Randall Vergleichsmöglichkeiten, die 1 mg als wirksam bezeichnen, und für Dicodid findet sich bei Winter u. Flataker sowie Ernst die Angabe, daß 0,25 bzw. 0,5 mg/kg zur Hustenhemmung genügen. Demgegenüber sahen Eichler u. Smiatek selbst bei der Zufuhr von 1,0 mg/kg Dicodid nur einen ebenso starken Effekt wie nach der Anwendung der *gleichen* Dosis Morphin.

Die von Friebel gefundenen hustenstillenden Gaben liegen dagegen, ähnlich wie für Morphin, so auch für alle anderen untersuchten Verbindungen, durchschnittlich erheblich höher, und zwar für Codein bei 8,0, für Paracodin bei 14,0,

Tabelle 2.

		Katze: Dosis mg/kg i.v.	Hustenreflex		
			unbeeinflußt	deutlich abgeschwächt	aufgehoben
	Cotarnin	2,0	3	—	—
		3,0	2	2	—
		6,0	3	1	—
	Hydrastinin	3,0	2	—	—
		6,0	3	—	—
	R = H_2 Papaverin	3,0	2	—	—
		6,0	3	—	—
	= O Papaveraldin	3,0	3	—	—
	Narcein	3,0	2	—	—
		6,0	3	—	—
	R = H Hydrastin	2,0	3	—	—
		3,0	3	2	—
		6,0	3	2	—
	= OCH_3 Narkotin	1,0	3	—	—
		2,0	4	—	—
		3,0	—	1	3
	Kryptopin	3,0	2	—	1
		6,0	3	—	—

für Dicodid bei 2,0, für Dilaudid bei 0,75, für Laevorphan bei 3,8, für Pethidin bei 8,0 und für Methadon bei 1,6 mg/kg.

Auch Narkotin entfaltet eine deutlich hustenstillende Wirkung und ist in dieser Hinsicht etwa wirkungsgleich mit Codein. Im Gegensatz zu allen anderen geprüften Stoffen bewirkt aber Narkotin, selbst in hoher Dosierung, keine Schädigung der Atmung. Unter dem Einfluß mittlerer Dosen ist eher eine leichte Steigerung der Atemfrequenz und des Atemvolumens festzustellen. Diese Beobachtung haben schon Meissner u. van Dongen gemacht und in ihren Arbeiten beschrieben. Für den hustenstillenden Effekt liegen bereits Befunde von Winter u. Flataker sowie Konzett u. Rothlin vor, die an Katzen und Hunden Dosen von 0,5—1,0 mg/kg gut wirksam fanden. Ebenso soll am Menschen Narkotin dem Codein in seinem hustenstillenden Effekt überlegen sein (Bickermann u. Barach).

Im Zusammenhang mit der Untersuchung des Narkotins wurde eine Reihe verwandter Alkaloide dem gleichen Testverfahren unterworfen. Innerhalb des gewählten Dosierungsbereiches von 1,0—6,0 mg war jedoch bei keinem der untersuchten Alkaloide ein sicherer hustenlindernder Effekt zu verzeichnen. Domenjoz gibt für Papaverin an, daß es in Dosen von 10 mg/kg eine kurzdauernde Hemmung des Hustenreflexes verursacht, Winter u. Flataker fanden beim Hydrastin, daß es in Dosen von 8 mg/kg eine Aufhebung des Hustenreizes beim Hund erzielt.

Analgesie.

Infolge Verwendung einer anderen Tierart (Mäuse) und andersartiger Applikationsformen sind die Ergebnisse aus diesen Versuchen mit den an der Katze gemessenen Wirkdosen nur bedingt vergleichbar. Dort fällt die Stufenfolge in der analgetischen Wirksamkeit für die einzelnen Substanzen bei den verschiedenen Tierspecies und Reizqualitäten quantitativ etwa gleichartig aus, so daß die an der Maus gesammelten Erfahrungen wahrscheinlich für die Katze weitgehend Geltung besitzen.

Die Verallgemeinerung der im Mäusetest erzielten Resultate erscheint um so mehr berechtigt, als selbst beim Menschen sich das Verhältnis der absoluten Wirkstärken bei den zentralen Analgetica im Vergleich zum Morphin in einer ähnlichen Größenordnung bewegt und die menschlichen Schmerzschwellen durch diese Stoffe im gleichen Sinne und quantitativ etwa gleichartig abgestuft beeinflußt werden. Infolgedessen können die an der Maus gefundenen 50%igen analgetischen Wirkdosen als eine ausreichende Grundlage für die Beurteilung der analgetischen Wirkstärken im Verhältnis zu dem hustenlindernden bzw. atemschädigenden Effekt angesehen werden.

Fast alle untersuchten Stoffe sind im Elektro- und Wärmetest an der Maus etwa gleich wirksam. Lediglich bei Dicodid finden sich erhebliche

Unterschiede in der Wirksamkeit, indem bei der Verwendung von Wärmereizen zur Schmerzauslösung erst weit höhere Dosen die Schmerzreaktion der Tiere unterdrücken, als im Elektrotest für die Verhütung des reizsynchron erfolgenden Piepstones erforderlich sind. Weiterhin nimmt Narkotin eine Sonderstellung ein, da ihm selbst in großen Dosen praktisch keine analgetische Wirksamkeit zuzusprechen ist. Ebenso weisen alle Alkaloide, die in ihrer chemischen Konstitution eine Verwandtschaft mit dem Narkotin erkennen lassen, in den gleichen Dosierungsbereichen keine schmerzlindernden Eigenschaften auf.

Bemerkungen zu den Versuchsergebnissen.

Vergleicht man die an der Maus ermittelten 50%igen analgetischen Wirkdosen mit den hustenstillenden und atemschädigenden Grenzschwellendosen, so

Tabelle 3. *Analgesie: Maus.*

Morphin		Codein		Paracodin		Dicodid		Dilaudid		Laevorphan		Pethidin		Methadon		Narkotin	
Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.	Dosis mg/kg	% Tiere Analg.
									Wärmereiz								
1,7	20	0,6	10	1,0	25	0,3	20	0,07	10	0,05	10	1,2	10	0,90	10	50,0	10
2,0	40	1,4	20	2,0	40	0,6	30	0,10	20	0,10	30	2,0	30	1,15	50	100,0	20
2,7	60	3,0	40	3,0	45	1,0	40	0,15	20	0,25	40	3,0	40	1,40	60		
3,1	80	5,0	50	5,0	80	1,6	50	0,20	60	0,35	60	5,0	50	1,65	80		
		10,0	60			2,9	80	0,29	70	0,50	70	8,0	80	2,00	100		
		17,0	80			05,	90	0,45	100	0,70	90	12,5	85				
50% ED 2,4		5,2		2,6		1,2		0,19		0,23		4,2		1,2		0	
									Elektr. Reiz								
1,0	10	1,4	20	1,0	25	0,2	30	0,15	35	0,2	20	1,2	10	0,6	20	50,0	5
1,3	20	2,5	35	2,0	45	0,5	60	0,20	55	0,3	50	2,0	20	0,9	30	100,0	10
1,7	30	5,0	50	3,0	65	1,0	90	0,25	70	0,5	75	3,5	50	1,1	50		
2,0	40	10,0	80	5,0	80			0,45	85	1,0	100	5,0	90	1,5	70		
2,3	50													2,0	90		
2,7	70																
3,1	80																
50% ED 2,2		4,4		2,2		0,36		0,2		0,32		3,1		1,3		0	

ergibt sich, daß für die Hemmung des Hustenreizes in der Regel schon ein Bruchteil der schmerzlindernden Gaben ausreichend ist. Die Atemschädigung tritt dagegen bei der Mehrzahl der untersuchten Substanzen erst in dem gleichen Dosierungsbereich auf, der eine sichere Dämpfung der Schmerzempfindung auslöst. Dies gilt jedoch nicht ohne Ausnahme. So werden beispielsweise von Codein und Paracodin sowie auch von Laevorphan für die Unterdrückung des Hustenreflexes relativ hohe Dosen benötigt, so daß hier die hustenverhütenden Gaben in größere Nähe zu den schmerzstillenden und atemschädigenden Dosen rücken. Andererseits ist bei Dicodid der hustenstillende Effekt besonders ausgeprägt, zumal wenn man die hierfür notwendigen Mengen mit den atemdepressiven Dosen vergleicht. Außerdem liegen bei Dicodid und Paracodin die Dosen, die die Atmung um 50% unter die Norm senken, deutlich oberhalb der analgetischen

Tabelle 4.

	50% Analgesie		Unterdrückung des Hustenreflexes Dosis mg/kg i.v. Katze	50% Hemmung	
	Wärmereiz	elektr. Reiz		Atemfrequenz	Atemvolumen
	Dosis mg/kg s.c. Maus			Dosis mg/kg i.v. Katze	
Morphin	2,4	2,2	0,25	2,0	2,5
Codein	5,2	4,4	3,0	5,0	5,0
Paracodin	2,6	2,2	2,0	4,0	4,0
Dicodid	1,2	0,36	0,2	3,0	3,0
Dilaudid	0,19	0,20	0,05	0,2	0,2
Laevorphan	0,23	0,32	0,1	0,3	0,2
Pethidin	4,2	3,1	1,0	4,0	3,0
Methadon	1,2	1,3	0,3	1,0	0,5
Narkotin	—	—	3,0	—	—

Grenzschwellendosen, so daß auch in dieser Hinsicht quantitative Unterschiede in der Beeinflussung verschiedener Teilfunktionen des Organismus nachweisbar sind. Wir möchten daher *nicht* wie SCHAUMANN annehmen, daß selbst in quantitativer Hinsicht ein engster Zusammenhang zwischen der analgetischen Wirkdosis und der atemschädigenden Funktion in der Reihe der morphinähnlich wirksamen Analgetica gegeben sein müsse und daß mit der Zunahme der schmerzlindernden Wirksamkeit der Einfluß auf die übrigen Wirkungsmechanismen, wie die Unterdrückung der Atmung und des Hustenreflexes, quantitativ in gleichem Maße zunähme. Andererseits gehören aber diese Wirkungskomponenten insofern untrennbar zu dem gesamten Wirkungsbild dieser Verbindungsklasse, als es keine schmerzlindernde Substanz gibt, die nicht gleichzeitig auf die Atmung ungünstig einwirkt.

Der Vorteil des Narkotins beruht auf der Tatsache, daß es eine hustenstillende Wirkung von etwa gleicher Wirkstärke wie Codein besitzt und daß ihm jegliche analgetische Eigenschaft und jeder ungünstige Effekt

auf die Atemfunktion fehlt. Außerdem setzt es keine bronchoconstrictorische Nebenwirkungen wie das Codein (Konzett u. Rothlin).

Auch beim Narkotin geht demnach die Dämpfung des Hustenreizes nicht mit der Beeinflussung der Schmerzperzeption parallel. Bei der großen Konstitutionsabhängigkeit der spezifischen Wirkungskomponenten, die nach der Ansicht von Schaumann beim Morphin und bei den ihm verwandten synthetischen Verbindungen in ihrer Wirkstärke einander parallel verlaufen sollen, kann man jedoch gegen dieses Beispiel einwenden, daß Narkotin sich in seiner chemischen Konstitution und seinen chemischen Eigenschaften recht beträchtlich von den übrigen Substanzen dieser Gruppe unterscheidet. Schon weitaus geringfügigere Änderungen an der Morphin-Molekel können bekanntlich zum Verlust bestimmter Wirkungsqualitäten führen. Infolgedessen beweist das für Narkotin gefundene charakteristische Verhalten an sich noch nicht, daß bei den eigentlichen, morphinähnlich wirkenden Analgetica ein derart enger Zusammenhang quantitativer Art zwischen der analgetischen Wirkstärke und der Beeinflussung anderer Funktionsmechanismen nicht bestehen kann. Nun gibt es aber eine Reihe weiterer Befunde mit synthetisch hergestellten morphinähnlichen Produkten, bei denen sich der gleiche Wirkungstyp wie beim Narkotin findet. So hat beispielsweise die rechtsdrehende Form von Methadon und Iso-Methadon im Vergleich zur linksdrehenden nur geringe analgetische, aber stark hustenstillende Eigenschaften (Winter u. Flataker, 1952). Ebenso wirkt Dextrorphan, die rechtsdrehende Isomere des Laevorphan, hustenstillend und nicht analgetisch. Diese hustenhemmende Eigenschaft steigert sich noch, wenn die phenolische Hydroxylgruppe im aromatischen Ring durch eine Methoxygruppe ersetzt wird. Das auf diese Weise gewonnene Methyl-Dextrorphan, dem in der Morphinreihe das Codein entspricht, bremst im Tierversuch den Hustenreflex noch besser als Dextrorphan, und zwar wiederum bei völlig fehlender Analgesie (Pellmont u. Bächtold). Es gibt demnach eine Reihe von Parallelen zu dem Verhalten des Narkotins, und diese Beobachtungen insgesamt lassen es doch sehr zweifelhaft erscheinen, ob zwischen der husten- und schmerzhemmenden Wirksamkeit in der Regel ein innerer Zusammenhang besteht und ob diese beiden Wirkungsmechanismen tatsächlich so eng miteinander gekoppelt sind, daß bei jeder Verbindung, die kräftiger analgetisch wirkt, etwa im gleichen Ausmaß auch der dämpfende Effekt auf Atmung und Hustenreflex zunimmt und daß umgekehrt mit einem Verlust der analgetischen Eigenschaften auch die anderen Wirkqualitäten quantitativ in etwa gleichem Umfang abnehmen.

Zusammenfassung.

An der Katze werden unter vergleichbaren Versuchsbedingungen die hustenstillenden und atemschädigenden Grenzschwellendosen für eine Reihe morphinähnlich wirksamer Analgetica sowie für Narkotin und diesem chemisch nahestehende Alkaloide ermittelt. Außerdem werden an der Maus für die gleichen Substanzen die analgetischen Wirkdosen unter Verwendung von Wärme- oder elektrischen Reizen zur Schmerzauslösung bestimmt. Die Registrierung der Atemfrequenz und des Atemvolumens erfolgt mit Hilfe eines Ordinatenschreibers, der das Atemvolumen und die Atemfrequenz als Ordinate und die Zeit als Abszisse aufzeichnet.

Zur Unterdrückung des Hustenreizes genügt bei der Mehrzahl der untersuchten Substanzen ein Bruchteil der schmerzlindernden Gaben.

Lediglich von Codein, Paracodin sowie Laevorphan werden höhere Dosen benötigt. Die Schädigung der Atemfunktion tritt in der Regel im gleichen Dosierungsbereich auf wie die sichere Dämpfung der Schmerzempfindung. Für Dicodid und Paracodin liegen dagegen die Mengen, die die Atmung um 50% unter die Norm senken, deutlich oberhalb der analgetisch wirksamen Grenzschwellendosen.

Narkotin wirkt hustenstillend, ohne gleichzeitig die Atemfunktion zu schädigen und ohne eine analgetische Wirkung auszuüben.

Literatur.

Benson, W. M., P. L. Stefko and L. O. Randall: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 189 (1953). — Bickermann, H. A., and A. L. Barach: Amer. J. Med. Sci. **228**, 156 (1954). — Bobb, J. R. R., and S. Ellis: Amer. J. Physiol. **167**, 768 (1951). — Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 19 (1952). — Dongen, K. van: Arch. internat. Pharmacodynamie **64**, 494 (1940). — Eckenhoff, J. E., and J. M. Comroe: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **76**, 725 (1951). — Eichholtz, F.: Dtsch. med. Wschr. **1940**, 792. — Eichler, O., u. A. Smiatek: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 621 (1940). — Ernst, A. M.: Arch. internat. Pharmacodynamie **58**, 363 (1938); **61**, 73 (1939). — Friebel, H., C. Reichle u. A. v. Graevenitz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 384 (1955). — Haas, H., E. Hohagen u. G. Kollmannsperger: Arzneimittel-Forsch. **3**, 238 (1953). — Haas, H., u. H. Kraft: Arzneimittel-Forsch. **4**, 249 (1954). — Harrison, J. W. E., C. M. Ambrus and J. L. Ambrus: Amer. Pharm. Ass. Buffalo, August 29—31 (1951). — Hillis, B. R., and J. C. C. Kelly: Glasgow Med. J. **32**, 72 (1951). — Höglund, N. J., u. M. Michaelson: Acta physiol. scand. (Stockh.) **21**, 168 (1950). — Konzett, H., u. E. Rothlin: Experientia (Basel) **10**, 472 (1954). — Kraushaar, A.: Arzneimittel-Forsch. **3**, 247 (1953). — Kroepfli, P.: Helvet. Physiol. Act. **8**, 33 (1950). — May, A. J., and J. G. Widdicombe: Brit. J. Pharmacol. **9**, 335 (1954). — Meissner, R.: Biochem. Z. **54**, 395 (1913). — Netheler, H., R. Magun u. K. Soehring: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 32 (1949). — Pellmont, B., u. H. Bächtold: Schweiz. med. Wschr. **1954**, 1368. — Rothlin, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 635 (1934). — Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, 48 (1952). — Arzneimittel-Forsch. **4**, 115 (1954). — Dtsch. med. Wschr. **1954**, 1571. — Schroeder, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 433 (1951). — Schroeder, W., u. F. Anschütz: Z. exper. Med. **117**, 37 (1951). — Stefko, P. L., and W. M. Benson: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **108**, 217 (1953). — Stefko, P. L., W. M. Benson and L. O. Randall: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **103**, 363 (1951). — Toner, J., and E. Macko: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **106**, 246 (1952). — Trendelenburg, U.: Acta physiol. scand. (Stockh.) **21**, 174 (1950). — Winter, Ch., and L. Flataker: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **112**, 99 (1954). — Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **81**, 463 (1952).

Prof. Dr. H. Haas, Pharmakolog. Laboratorium d. Knoll A.-G., Ludwigshafen/Rh.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 453—462 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Wirkungssteigerung von Schlafmitteln durch den Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols.

Von

D. Neubert und H. Herken.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Januar 1955).

Bei Untersuchungen der pharmakologischen Eigenschaften des Diäthylaminoäthanolesters der Phenyldiallylessigsäure haben wir nach Vorbehandlung von Ratten mit dieser Substanz eine auffällige Verlängerung und Vertiefung der Wirkung verschiedener Barbitursäurepräparate festgestellt, die bei Verwendung von Evipan besonders deutlich war.

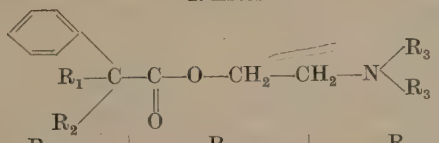
Im vorigen Jahre wurden von L. Cook, D. Toner u. E. Fellow (1954) ähnliche Beobachtungen bei der Prüfung eines entsprechenden Esters der Diphenylpropylessigsäure gemacht, die von Axelrod, Reichenthal u. Brodie (1954) bestätigt wurden. Bei der Diskussion dieser Befunde vertreten die genannten Verfasser die Ansicht, daß sich die untersuchte Verbindung durch einzigartiges Verhalten auszeichnet, wenn sie die beobachteten schlafverlängernden Eigenschaften mit denjenigen bereits bekannter Substanzen vergleichen. Hierbei fiel allerdings auf, daß die narkoseverstärkenden Wirkungen der bekannten Phenothiazinderivate vom Typ des Megaphen und des Largactil nicht erwähnt wurden.

Bei unseren eigenen Untersuchungen standen uns verschiedene Ester und Säureamide der Phenylessigsäure zur Verfügung. Daher konnten sich unsere Untersuchungen auch mit der Frage beschäftigen, welche chemischen Gruppen für das Zustandekommen der schlafverlängernden Wirkungen wichtig sind. Vergleichende pharmakologische Prüfung dieser Substanzen, die fast alle spasmolytische Wirkungen besitzen, ermöglichte genauere Aussagen über dieses Problem.

Folgende Ester und Säureamide wurden geprüft.

Tabelle 1.

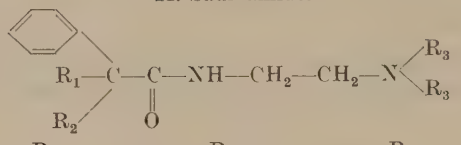
I. Ester



CFT	R_1	R_2	R_3	
1201	C_3H_5	C_3H_5	C_2H_5	HCl
1214	C_3H_5	C_3H_5	CH_3	HCl
1208	H	C_3H_5	C_2H_5	HCl
1046	H	C_6H_{11}	C_2H_5	HCl

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

II. Säureamide.



	R_1	R_2	R_3	
1215	wie 1201			
1220	C_3H_5	C_3H_5	C_2H_5	JCH_3
1219	wie 1214			
1218	wie 1208			
1216	wie 1046			
1042	C_3H_5	C_3H_5	$-C(CONH_2)$	HCl

Die Substanzen wurden in den Laboratorien der Chemischen Fabrik Tempelhof synthetisiert.

Als Test diente die Bestimmung der Schlafdauer nach intraperitonealer Verabreichung von 100 mg/kg Evipan. Der Schlaf wurde als beendet angesehen, wenn die Tiere die ersten Anstalten machten, sich aus der Seitenlage aufzurichten. In den einzelnen Versuchen, die in der folgenden Abbildung zusammengestellt sind, wurden jeweils 50 mg/kg 1201 bzw. äquimolare Mengen der anderen Verbindungen 1 Std vor der Verabreichung des Schlafmittels intraperitoneal injiziert.

Die Unterschiede in der Wirkung der einzelnen Verbindungen sind beträchtlich, so daß folgende Aussagen über die Bedeutung der chemischen Konstitution für die schlafverlängernde Wirkung möglich sind.

1. Der Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols ist die wirksamste Substanz. Sie verlängert die Schlafdauer von 100 mg/kg Evipan bei weißen Ratten um das 8—10fache.

2. Der Dimethylaminoäthanolester ist sehr viel weniger wirksam als das entsprechende Äthylderivat, wie sich aus dem Vergleich der Versuchsergebnisse mit 1201 und 1214 ergibt.

3. Die Estergruppierung ist notwendig, denn das analoge Säureamid der Phenyldiallylessigsäure ist sehr viel weniger wirksam.

4. Ersatz einer Allylgruppe durch ein Wasserstoffatom führt zu vollständigem Wirkungsverlust des Esters im Test mit Evipan.

Bei Versuchen mit 1201 fiel auf, daß die Toxicität auch bei der stark verlängerten Schlafdauer im Vergleich zu den Kontrollen nicht zunahm. Dies gilt nicht für alle geprüften Pharmaka. Die viel geringer wirksame Verbindung 1214 steigerte die Toxicität von Evipan ganz beträchtlich.

Bei der Bestimmung der Toxicität des Phenyldiallylessigsäureesters wurden folgende Werte bei oraler, subcutaner und intraperitonealer Applikation erhalten.

Toxicität des Diäthylaminoäthanolesters der Phenyldiallylessigsäure bei Versuchen an Ratten.

	Oral	Subcutan	Intraperitoneal
LD 50 in mg/kg	1500	1500	170

Zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus haben wir vergleichende Versuche mit anderen Kurznarkotica durchgeführt, die sich durch ihre chemische Struktur deutlich vom Evipan unterscheiden. Dadurch sollte

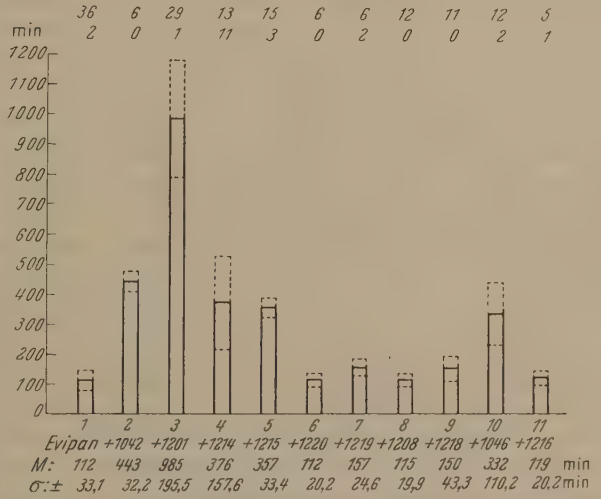


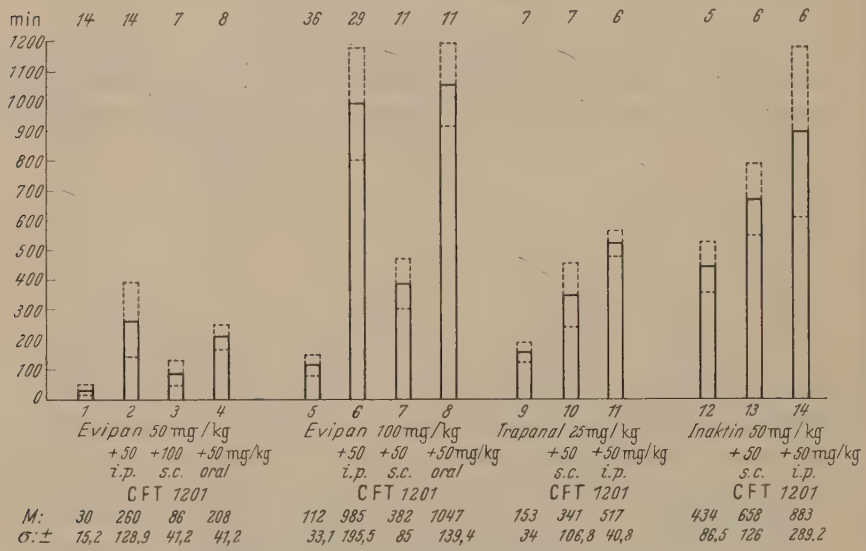
Abb. 1. Der Einfluß verschiedener Derivate der Phenylessigsäure auf die Schlafdauer nach 100 mg/kg Evipan. Versuchstiere: weiße Ratten. Die Strichelung an den Säulen gibt in allen Abbildungen die Streuung der Versuchsergebnisse an. Über den Säulen: 1. Reihe: Zahl der Versuchstiere; 2. Reihe: Zahl der Gestorbenen.

Statistische Auswertung nach dem t-Verfahren der Versuche aus Abb. 1.

Säule			Die Differenz ist
1 : 2;	$t = 23{,}3$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
1 : 3;	$t = 23{,}7$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
1 : 4;	$t = 6{,}0$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
1 : 5;	$t = 24{,}0$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
1 : 6;			nicht signifikant
1 : 7;	$t = 4{,}0$;	$p = 0{,}0002$	gut gesichert
1 : 8;	$t = 0{,}4$;	$p = 0{,}7$	nicht signifikant
1 : 9;	$t = 2{,}7$;	$p = 0{,}01$	schwach gesichert
1 : 10;	$t = 6{,}8$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
1 : 11;	$t = 0{,}2$;	$p = 0{,}85$	nicht signifikant

zunächst festgestellt werden, ob dem beobachteten Effekt eine generelle Bedeutung zukommt (Abb. 2). Bei diesen Versuchen war besonders überraschend, daß die Verbindung 1201 bei oraler Verabreichung ebenso

wirksam war wie bei intraperitonealer Injektion, obwohl die Substanz bei oraler Verabreichung fast 9mal weniger giftig ist. Der Ester wird daher vom Magen-Darm-Trakt aus gut resorbiert. Auffällig ist der geringe



Inaktin: Aethyl-(1-methyl-propyl) thiobarbitursäure.
Trapanal: Aethyl-(1-methyl-butyl) thiobarbitursäure.

Abb. 2. Vergleichende Versuche mit einigen Kurznarkotica. Über den Säulen: Zahl der Versuchstiere.

Statistische Auswertung nach dem t-Verfahren der Versuche aus Abb. 2.

Säule			Die Differenz ist
1 : 2;	$t = 6{,}8$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
1 : 3;	$t = 3{,}5$;	$p = 0{,}002$	gut gesichert
1 : 4;	$t = 7{,}8$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
2 : 3;	$t = 4{,}6$;	$p = 0{,}0002$	gut gesichert
2 : 4;	$t = 1{,}2$;	$p = 0{,}25$	nicht signifikant
5 : 6;	$t = 23{,}7$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
5 : 7;	$t = 10{,}3$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
6 : 7;	$t = 13{,}5$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
6 : 8;	$t = 1{,}1$;	$p = 0{,}29$	nicht signifikant
9 : 10;	$t = 4{,}1$;	$p = 0{,}002$	gut gesichert
9 : 11;	$t = 17{,}3$;	$p = < 0{,}0002$	gut gesichert
10 : 11;	$t = 3{,}7$;	$p = 0{,}004$	gesichert
12 : 13;	$t = 3{,}5$;	$p = 0{,}006$	gesichert
12 : 14;	$t = 3{,}6$;	$p = 0{,}005$	gesichert
13 : 14;	$t = 1{,}7$;	$p = 0{,}1$	nicht signifikant

Effekt des 1201 bei subcutaner Verabreichung, für den noch keine befriedigende Erklärung gefunden wurde. Der Vergleich mit den anderen

Kurznarkotica läßt deutlich erkennen, daß die schlafverlängernde Wirkung bei den Thiobarbitursäuren geringer ist. Eine allgemeine gleichmäßige Steigerung der Empfindlichkeit des Organismus gegenüber Schlafmitteln schien demnach nicht aufzutreten. Schon diese Beobachtungen ließen vermuten, daß die verschiedene chemische Struktur der Barbitursäureverbindungen als Ursache für die beobachteten Unterschiede herangezogen werden kann. Da die Barbitursäureverbindungen je nach der Zusammensetzung im Stoffwechsel des Organismus mit verschiedener Geschwindigkeit abgebaut werden, lag es nahe, einen Eingriff des Phenyldiallylessigsäureesters in diejenigen Stoffwechselprozesse des Organismus anzunehmen, die auf sehr verschiedenen Wegen zu einer Entgiftung der Schlafmittel führen. Diese Möglichkeit wurde auch von den amerikanischen Autoren bei den Untersuchungen mit dem analogen Ester der Diphenylpropylessigsäure in erster Linie diskutiert. Beim Abbau der Barbiturate sind zahlreiche chemische Reaktionen gefunden worden, die nach J. Raventos (1954) in folgender Weise aufgeteilt werden können.

1. Oxydation der Seitenketten in Position 5 des Barbitursäureringes mit Bildung von Keto-, Hydroxyl- und Carboxylbarbitursäuren.
2. Verlust der N-Alkylgruppe.
3. Abspaltung des Schwefels aus den Thiobarbitursäuren.
4. Hydrolytische Spaltung des Barbitursäureringes.

Diese Abbauwege sind durch Versuche an verschiedenen Derivaten der Barbitursäure durch Isolierung der Spaltprodukte experimentell nachgewiesen worden. Durch geeignete Variationen der Versuchsanordnung müßte daher bei entsprechender Auswahl der verschieden konfigurierten Barbitursäurederivate ein Urteil darüber möglich sein, welche intermediären Reaktionen, die zur Entgiftung der Schlafmittel im Körper führen, durch den Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols bevorzugt gehemmt werden. Bei der Betrachtung der oben diskutierten Reaktionen lassen sich in diesem speziellen Fall schon deswegen Einschränkungen machen, weil der Verlust der N-Alkylgruppe und die Abspaltung des Schwefels aus den Thiobarbitursäuren nicht zur Unwirksamkeit des jeweiligen Schlafmittels führen. Besondere Bedeutung haben in diesem Zusammenhang vor allem diejenigen Abbauwege, die einen völligen Wirkungsverlust der Schlafmittel verursachen. Nach den in der Literatur vorliegenden Befunden sind dies die hydrolytischen Sprengungen des Barbitursäureringes, von denen nach den Untersuchungen von van Dyke u. Mitarb. (1947, 1950) zwar viele Hypnotica betroffen werden, die aber wegen ihres geringen Umfanges offensichtlich nur untergeordnete Bedeutung besitzen, und die verschiedenen Möglichkeiten oxydativer Veränderungen der Seitenketten, von denen der menschliche und tierische Organismus hauptsächlich bei der Entgiftung von Schlafmitteln Gebrauch macht. Aus diesem Grunde haben wir bei den weiteren Versuchen vor

allem solche Derivate der Barbitursäure geprüft, die nach den Arbeiten von Halberkann u. Reiche (1927), sowie von Fretwurst, Halberkann u. Reiche (1930, 1932) durch Oxydation der Seitenketten in Position 5 des Barbitursäureringes inaktiviert werden. Wir wählten das Bromallylisopropyl — und das Butyl-β-bromallylderivat der Barbitur-säure (Noctal und Pernokton), denen zum Vergleich noch die N-methylierte Verbindung der Bromallylisopropylbarbitursäure (Eunarcon) gegenübergestellt wurde (Abb. 3). Alle drei Verbindungen erfahren nach Vorbehandlung mit 1201 eine erhebliche Verlängerung der Schlafwirkung, wobei sich keine gesicherten Unterschiede zwischen der N-methylierten und den methylfreien Formen ergaben. Die Versuchsanordnung wurde durch Experimente mit Bromural und Urethan ergänzt, deren Wirkung nur unwesentlich verlängert wurde. In allen Versuchen wurde der Phenyldiallylessigsäureester in einer Dosis von 50 mg/kg 1 Std vor der Schlafmittelgabe intraperitoneal injiziert.

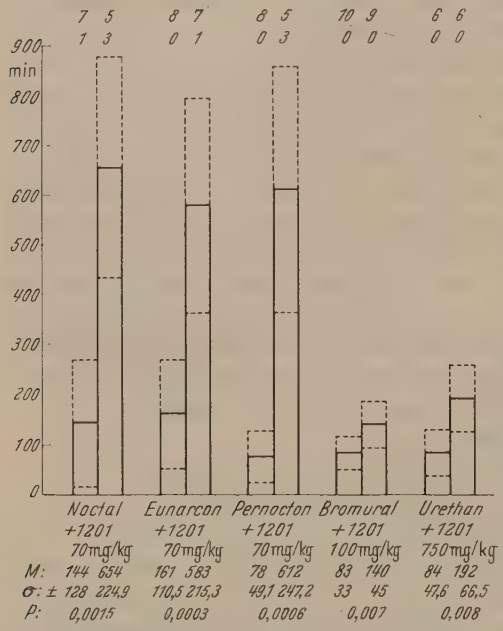
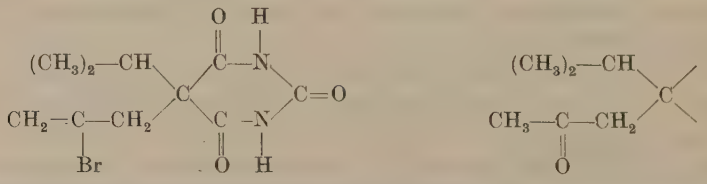


Abb. 3. Wirkung von 50 mg/kg Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols (intraperitoneal) auf verschiedene Hypnotica. Über den Säulen: 1. Reihe: Zahl der Versuchstiere: 2. Reihe: Zahl der Gestorbenen.

Die Inaktivierung der ersten drei Schlafmittel, deren Wirkung im Gegensatz zu derjenigen des Urethans und Bromurals auffällig verstärkt wird, verläuft nach den Arbeiten von Halberkann u. Mitarb. (1927, 1930, 1932) und Fr. Boedecker u. H. Ludwig (1929) auf dem Wege über folgende Oxydation der Bromallylgruppe zu der entsprechenden Ketoverbindung.



Beim Pernokton ließ sich eine analoge Butylacetonylbarbitursäure nachweisen. Beide Oxydationsprodukte haben keine hypnotische Wirkung. Nach Verabreichung

der Cyclohexenyläthylbarbitursäure (Phanodorm) ist von HALBERKANN (1932) im Harn von Hunden ein Oxydationsprodukt folgender Struktur nachgewiesen worden.

Diese Cyclohexenonylbarbitursäure ist pharmakologisch ebenfalls inaktiv. Dieser für den Organismus offensichtlich einfachste Schritt der Entgiftung findet in adäquater Form auch beim Evipan statt. Ob die damals von H. WEESE (1936) zusätzlich angenommene Aufspaltung des Barbitursäureringes, die durch die N-Methylierung begünstigt werden soll, praktische Bedeutung besitzt, ist nach neueren Untersuchungen sehr fraglich. Der Umfang der Entgiftung wird wahrscheinlich nur durch das Ausmaß der Oxydation bestimmt, die je nach der Struktur der Barbitursäureverbindungen mit verschiedener Geschwindigkeit verlaufen kann. Vielleicht erklärt sich so auch der viel geringere Einfluß des Esters auf die Äthyl-methylbutyl-thiobarbitursäure, deren Seitenketten durch Oxydation in folgender Weise entgiftet werden können.

Hier entsteht nach MAYNERT u. VAN DYKE (1949) ein entsprechendes Hydroxylderivat der Ausgangsverbindung. Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß diese Untersuchungen an der Äthyl-methylbutyl-barbitursäure vorgenommen wurden, die keinen Schwefel enthält. Nach Behandlung von Pat. mit hohen Dosen einer Thiobarbitursäureverbindung konnten BRODIE u. Mitarb. (1950) aus dem Harn ein Carboxylderivat der ursprünglichen Verbindung isolieren.

Wenn die Vorstellungen richtig sind, daß die geprüfte Phenyldiallylessigsäureverbindung nur die Wirkung solcher Schlafmittel beeinflußt, die durch den Stoffwechsel der Gewebe entgiftet werden, so dürfen die Effekte derjenigen Schlafmittel nicht oder nur wenig beeinflußt werden, die dem chemischen Abbau im Organismus erheblichen Widerstand entgegensetzen. Aus diesem Grunde haben wir weitere Versuche mit der Diallylbarbitursäure sowie dem Luminal und Veronal durchgeführt. Unter ihnen wird bekanntlich die Diäthylbarbitursäure als einzige nahezu vollständig unverändert ausgeschieden. Die statistische Auswertung der in der folgenden Abbildung zusammengestellten Versuche zeigt die Sonderstellung des Veronals. Auch diese Versuche unterstützen die Annahme, daß der Phenyldiallylessigsäureester den chemischen Abbau bestimmter Barbitursäurederivate im tierischen Organismus verhindert oder verlangsamt und damit die Wirkung verlängert.

Bei den Untersuchungen des Diphenylpropylessigsäureesters des Diaethylaminoaethanols kamen COOPER, AXELROD u. BRODIE (1954) zu einem ähnlichen Ergebnis. Diese Autoren konnten an Gewebeschnitten

und Homogenaten der Leber zeigen, daß die Oxydation der Seitenketten verschiedener Schlafmittel auch unter den Bedingungen in vitro durch den Ester gehemmt wird. Auf Grund weiterer Experimente mit anderen Pharmaka wird festgestellt, daß auch die Abspaltung von Methylgruppen, bestimmte Desaminierungen, die Spaltung der Ätherbindung im Codein und auch die Entgiftung von Morphin behindert werden können. Auch diese Autoren konnten keine allgemein geltende Empfindlichkeitssteigerung des Zentralnervensystem gegenüber Schlafmitteln feststellen. Das ist sicher der wesentliche Unterschied dieser Abkömmlinge der Phenylessigsäure gegenüber der Wirkungsweise der narkoseverlängernden und vertiefenden Phenothiazinderivate.

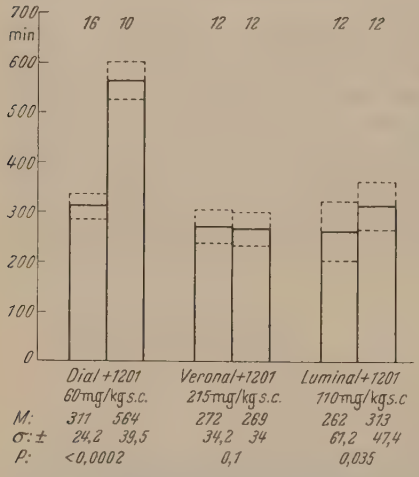


Abb. 4. Versuche mit Dauerschlafmitteln. Über den Säulen: Zahl der Versuchstiere.

Mit dem Eingriff in den oxydativen Abbau von Schlafmitteln sind die Wirkungen des von uns geprüften Esters der Phenyldiallylessigsäure sicher nicht erschöpft. Dies zeigte sich bereits in orientierenden Versuchen an Arzneimitteln mit völlig anderen pharmakologischen Eigenschaften, deren Effekte ebenfalls deutlich verstärkt wurden. Als Beispiel wird hier noch d-Tubocurarin und Succinylbis-cholin angeführt.

Tabelle 2.

Dosis	1201	Zahl der Tiere	nach 5′ matt	nach 10′ head-drop	nach 15′	nach 25′	Zahl der Toten
			d-Tubocurarin				
1 E/kg	∅	8	0	4	4	0	0
1 E/kg	50 mg/kg i.p.	8	7	7	6	6	1
1,5 E/kg	∅	6	0	3	0		0
1,5 E/kg i.p.	50 mg/kg	6	5	5	→		5
			Succinylbis-cholin				
3 mg/kg	∅	8	8	0			0
3 mg/kg	50 mg/kg	8	8	8	1→	1→	7
1 mg/kg	∅	6	0	0			0
1 mg/kg i.p.	50 mg/kg	6	2	2	0		0

→ = Rest der Tiere unter schweren Lähmungserscheinungen gestorben (Atemstillstand).

Es war überraschend, daß auch die Wirkung von Cardiazol verstärkt wurde, über dessen Abbau im Organismus noch wenig bekannt ist.

Tabelle 3.

Substanz	1201 i. p.	Zahl der Versuchstiere	Zahl der Tiere mit Krämpfen
Cardiazol 60 mg/kg s. c.	∅	8	5
Cardiazol 60 mg/kg s. c.	50 mg/kg	8	8
Cardiazol 40 mg/kg s. c.	∅	12	0
Cardiazol 40 mg/kg s. c.	50 mg/kg	12	9

Bei der Untersuchung anderer pharmakologischer Eigenschaften des Phenyldiallylessigsäureesters fand M. Kramer (1954) eine blutdrucksenkende Wirkung mit kurzem reflektorischen Atemstillstand an Katzen. In Versuchen über die Lokalisation der Receptoren für diesen Reflex zeigte sich, daß der Atemstillstand durch Injektion kleiner Dosen in die Arteria pulmonalis ausgelöst werden konnte. Hierzu genügte $^1/_5$ der Menge, die bei der Applikation in die Vena jugularis wirksam war. Nach Durchschneidung des Vagus blieb der Atemstillstand aus. Eine Injektion hoher Dosen in den li. Ventrikel war auch bei intaktem Vagus ohne Effekt. Es ist fraglich, ob diese Wirkung der Substanz 1201 auf einer Störung spezifischer Stoffwechselprozesse in den Receptoren der Gefäße beruht.

Zwischen den spasmolytischen Eigenschaften des Phenyldiallylessigsäureesters, die sich in der Aufhebung der Acetylcholinkontraktion am isolierten Darm äußern, und den oben beschriebenen schlafverlängernden Wirkungen besteht sicher kein Zusammenhang, denn der spasmolytisch weit wirksamere Diäthylaminoäthanolester der Phenyl-Cyclohexylessigsäure ist im Evipantest dem 1201 erheblich unterlegen.

Besonders bemerkenswert scheint uns der Befund, daß der Diäthylaminoäthanolester der Phenyldiallylessigsäure auch bei oraler Verabreichung im Test mit verschiedenen Schlafmitteln sehr wirksam, aber auffallend wenig toxisch ist. Da die verhältnismäßig hohe Dosis von 1 g/kg von den Versuchstieren ohne deutlich erkennbare Nebenwirkungen vertragen wurde, muß angenommen werden, daß die chemischen Prozesse, die zur Inaktivierung verschiedener Pharmaka führen, wesentlich leichter gestört werden können als der normale intermediäre Stoffwechsel. Aus diesem Grunde besitzt der geprüfte Ester durch seinen selektiven Eingriff in die Entgiftung verschiedener Pharmaka durch den Gewebestoffwechsel besonderes theoretisches Interesse. Natürlich muß noch geprüft werden, ob die Substanz den intermediären Stoffwechsel unter pathologischen Bedingungen unbeeinflußt läßt und ebenso wird festzustellen sein, welche Schädigungen nach chronischer Verabreichung auftreten.

Zusammenfassung.

1. Bei der Prüfung verschiedener Derivate der Phenylessigsäure wurde gefunden, daß der Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols die Schlafwirkung von Evipan erheblich verlängert.

2. Die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und schlafverlängernder Wirkung werden durch vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Estern und Säureamiden der Phenylessigsäure geklärt.

3. Der Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols verstärkt hauptsächlich die Wirkungen von Barbitursäureverbindungen, die im Stoffwechsel des Organismus durch Oxydation entgiftet werden.

4. Orientierende Versuche mit Cardiazol, d-Tubocurarin und Succinylbis-cholin lassen ebenfalls nach Vorbehandlung mit dem Ester eine Wirkungssteigerung dieser Pharmaka erkennen.

5. Der geprüfte Ester ist auch bei oraler Verabreichung im Test mit verschiedenen Schlafmitteln sehr wirksam, aber auffallend wenig toxisch. Der normale intermediäre Stoffwechsel der Gewebe scheint unter diesen Bedingungen wenig gestört zu werden.

Literatur.

Axelbrod, J., I. Reichenthal and B. B. Brodie: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **112**, 49 (1954). — Boedecker, Fr., and H. Ludwig: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **139**, 352 (1929). — Brodie, B. B., L. C. Mark, E. M. Papper, Ph. A. Lief, E. Bernstein and E. A. Rovenstine: J. Pharmacol. a. Exper. Ther **98**, 85 (1950). — Cook, L., I. I. Toner and E. I. Fellow: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **111**, 131 (1954). — Cooper, J. R., J. Axelrod and B. B. Brodie: J. Pharmacol. and Exper. Ther. **112**, 55 (1954). — van Dyke, H. B., J. V. Scudi and D. L. Tabern: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **90**, 364 (1947). — Maynert, E. W. and H. B. van Dyke: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **98**, 174, 180 (1950). — Fretwurst, F., J. Halberkann u. F. Reiche: Münch. med. Wschr. **1930**, 1573; **1932**, 1429. — Halberkann, J., u. F. Reiche: Münch. med. Wschr. **1927**, 1450. — Kramer, M.: Arch exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 148 (1954). — Maynert, E. W., and H. B. van Dyke: Science (Lancaster, Pa.) **110**, 661 (1949), zit. nach J. Raventos 1954. — Raventos, J.: J. of Pharmacy a. Pharmacol. **6**, 217 (1954). — Weese, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 46 (1936).

Prof. Dr. H. Herken,
Pharmakol. Institut d. Fr. Univ., Berlin-Dahlem, Thielallee 69/73.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 463—473 (1955).

Zur Frage des Mechanismus der Digitonin-Hämolyse.

Von

W. Wilbrandt und S. Frei.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Januar 1955.)

Es wurde in früheren Arbeiten gezeigt, daß Hämolyse auf verschiedene Arten ausgelöst werden kann. Als kolloid-osmotisch[10, 11, 16] wurde ein Hämolysetyp bezeichnet, bei dem die Erythrocytenmembran gesteigert für Kationen durchlässig wird, so daß Salz eintritt, osmotisch Wasser nachzieht, wodurch die Zellen osmotisch schwellen und bei Erreichung des kritischen Hämolysevolumens hämolysieren. Diesem Typ, bei dem die inmittelbare Ursache der Lyse die gleiche ist wie bei osmotischen Hämolysen in hypotonischen Lösungen oder Lösungen penetrierender Substanzen, wurde als nichtosmotisch ein anderer Typ gegenübergestellt, bei dem der Auflösung der Zellen eine osmotische Schwellung nicht vorauszugehen scheint, jedenfalls am Verhalten der osmotischen Resistenz nicht erkennbar ist. Die Kurven der osmotischen Resistenz verschieben sich bei den osmotischen Hämolysetypen seitlich, d. h. die osmotische Resistenz nimmt ab. Beim nichtosmotischen verändern sie sich bei unveränderter osmotischer Resistenz nur in vertikaler Richtung durch Hebung des nichthämolytischen Kurventeils.

Es wurde weiter gezeigt, daß die Abnahme der osmotischen Resistenz, die den osmotischen Hämolysetypen eigen ist, auch bei einem dritten Hämolysetyp auftritt, bei dem sich nicht der osmotisch wirksame Inhalt der Zellen (durch Eindringen penetrierender Substanz), sondern das kritische Hämolysevolumen verändert. Dieser Typ wurde als Grenzvolumhämolyse bezeichnet[14]. Er ist vom kolloid-osmotischen Typ u. a. durch das Verhalten des Hämatokritvolumens zu unterscheiden, das bei der kolloid-osmotischen ebenso wie bei anderen osmotischen Hämolysen ansteigt, bei der Grenzvolumhämolyse dagegen nicht.

Es stellte sich die Frage, ob diese verschiedenen Typen als Ausdruck verschiedener Angriffspunkte der hämolytisch wirkenden Agentien zu betrachten sind und welche Angriffspunkte gegebenenfalls den einzelnen Typen zuzuschreiben seien.

Zahlreiche Hämolysen, darunter auch solche, die durch einheitliche, chemisch wohl definierte Substanzen ausgelöst werden, gehören nach den genannten Kriterien nicht ausschließlich dem einen oder anderen Typ an, sondern zeigen Züge verschiedener Typen. Je eingehender die Unter-

suchung durchgeführt wird, d. h. je mannigfaltiger die Versuchsbedingungen abgewandelt werden, desto mehr erweisen sich solche Kombinationstypen als das häufigere und reine Typen als das seltenere Vorkommnis.

Damit erweitert sich die gestellte Frage dahin, ob solche Hämolytika an mehreren Angriffspunkten ansetzen oder ob die verschiedenen Typen als Varianten eines gemeinsamen Grundvorganges betrachtet werden können, der in bezug auf Intensität und Geschwindigkeit durch verschiedene Parameter beeinflußt wird und daher je nach quantitativem Verhältnis dieser Parameter verschiedene Erscheinungsformen annehmen kann. Insbesondere schien es denkbar, daß der kolloid-osmotische Vorgang auch in anderen Typen enthalten oder durch sie ausgelöst wird. Für die Einzelheiten solcher Überlegungen sei auf frühere Veröffentlichungen verwiesen[10,14,15,16].

Für die Digitonin-Hämolyse hat Schmidt-Thomé[6,7,8] gezeigt, daß zwischen der Menge des einwirkenden Digitonins und derjenigen des in aufgelösten Zellen enthaltenen Cholesterins eine stöchiometrische Beziehung 1:1 besteht, woraus geschlossen werden darf, daß als Angriffspunkt dieses Hämolytikums das Cholesterin der Zellmembran zu betrachten ist. Durch den weiteren Nachweis, daß ähnliche Affinitäten zu anderen Bestandteilen der Zellmembran, insbesondere zu Lecithin im Gegensatz zu früheren Literaturangaben nicht bestehen, hat Schmidt-Thomé es außerdem recht wahrscheinlich gemacht, daß das Cholesterin nicht nur einer unter mehreren Angriffspunkten, sondern der einzige Angriffspunkt dieses Lytikums ist.

Die Digitonin-Hämolyse versprach unter diesen Umständen in bezug auf die diskutierten Fragen aufschlußreiche Ergebnisse. Sie wurde daher zum Gegenstand einer eingehenderen Studie gemacht, deren Ergebnisse in einer kurzen Mitteilung teilweise veröffentlicht worden sind[13] und nun ausführlicher dargestellt und diskutiert werden sollen.

Sie zeigen, daß die Digitonin-Hämolyse Komponenten aller drei genannten Typen enthält, die je nach Versuchsbedingungen mehr oder weniger überwiegen können, teilweise derart, daß die Hämolyse als reiner Vertreter des einen oder anderen Typs imponiert.

Methodik.

Das Prinzip der verwendeten Methode, für deren Einzelheiten auf frühere Mitteilungen verwiesen werden muß[9,12], besteht darin, daß mit isotonischer Kochsalz- oder Natriumsulfatlösung gewaschene Rindererythrocyten in isotonischer digitoninhaltiger Natriumsulfatlösung suspendiert und bei verschiedenen Temperaturen inkubiert werden. Aus den Suspensionen (deren Volumverhältnis Zellen : Lösung zwischen 1 : 1 und 1 : 50 variierte, in den meisten Fällen 1 : 10 betrug) wurden in regelmäßigen Zeitintervallen Proben entnommen und auf das Verhalten der osmotischen Resistenz geprüft. Die Prüfung erfolgte durch photoelektrische Bestimmung der Lichtstreuung mit Hilfe einer einfachen früher dargestellten Anordnung[9].

Die verwendeten Digitonin-Präparate waren Digitonin-Roche und Digitonin-Merck. Sie unterschieden sich in den wesentlichen Resultaten kaum. Die Hoffnung, in ihnen reine einheitliche Stoffe zu verwenden, erwies sich allerdings als unberechtigt, als es Ruhenstroth und Breitenfeld gelang, Digitonin-Merck in zwei Komponenten zu zerlegen. Eine der beiden, von der die Autoren uns liebenswürdigerweise eine Versuchsmenge zur Verfügung stellten, wurde zur Prüfung des Hämolysetyps bei 2° C und 42° C verwendet. Der Typ war bei 42° C überwiegend nichtosmotisch, bei 2° C überwiegend derjenige einer Hämolyse mit Verschiebung der osmotischen Resistenz (Hämatokritversuche zur Abgrenzung zwischen Grenzvolumhämolyse und kolloid-osmotischer Hämolyse konnten nicht durchgeführt werden). Die Resultate zeigten keinen prinzipiellen Unterschied gegenüber den mit Digitonin-Merck (oder Roche) erhaltenen.

Resultate.

1. Die beiden Haupttypen. *a) Der Einfluß der Temperatur.* Abb. 1 zeigt zwei Versuchsreihen, in denen die Wirkung einer eben hämolysierenden Konzentration von Digitonin auf Rindererythrocyten durch

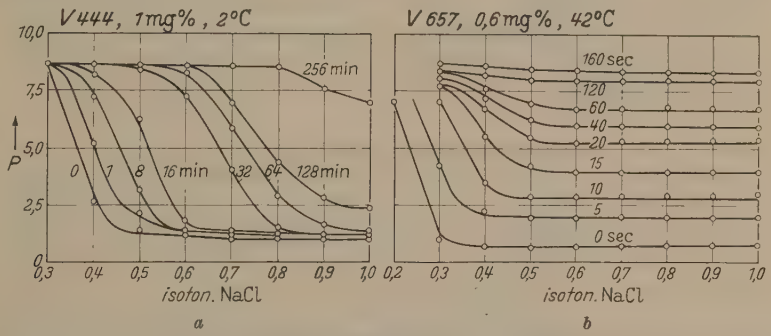


Abb. 1. Osmotische Resistenz bei Digitoninhämolyse bei zwei verschiedenen Temperaturen. Rindererythrocyten. Abszisse: Konzentration der Kochsalzlösung, Ordinate: Photometrische Ablesung.

wiederholte Aufnahme osmotischer Resistenzkurven vom Zusatz des Digitonins bis zur Hämolyse analysiert wurde. Der erste Versuch (Abb. 1a) wurde bei 2° C durchgeführt, der zweite (Abb. 1b) bei 42° C.

In dem Versuch bei 2° C verschieben sich die Resistenzkurven zunächst ohne jede Andeutung einer Hebung im nichthämolytischen Kurventeil rein seitlich bis zur Entnahme nach 64 min. Erst bei den Entnahmen nach 128 und 256 min deutet sich außerdem eine leichte Hebung an. Der Typ der Hämolyse ist danach in den ersten 64 min rein kolloidosmotisch oder grenzvolumhämolytisch, nachher tritt eine nichtosmotische Komponente hinzu.

Bei 42° C dagegen ist in den ersten Entnahmen nach 5 sec und nach 10 sec bereits eine ausgesprochene Hebung im nichthämolytischen Teil zu erkennen, daneben eine seitliche Verschiebung, die sich jedoch bei den weiteren Entnahmen nicht mehr verstärkt. Von 10 sec an ist die Veränderung rein diejenige des nichtosmotischen Hämolysetyps.

Neben der Form der Kurvenveränderung unterscheiden sich, wie zu erwarten, die beiden Temperaturen sehr ausgesprochen in der Geschwindigkeit der Veränderung. Während bei 2° C die Wirkung einer eben vollständig hämolysierenden Digitoninkonzentration nach etwa 4 Std vollständig wird, ist die entsprechende Zeit bei 42° etwa 3 min.

Niedrigere Digitoninkonzentrationen führen bei beiden Temperaturen qualitativ zu gleichartigen Änderungen, die aber quantitativ geringeres Ausmaß besitzen und nach einiger Zeit zum Stillstand kommen.

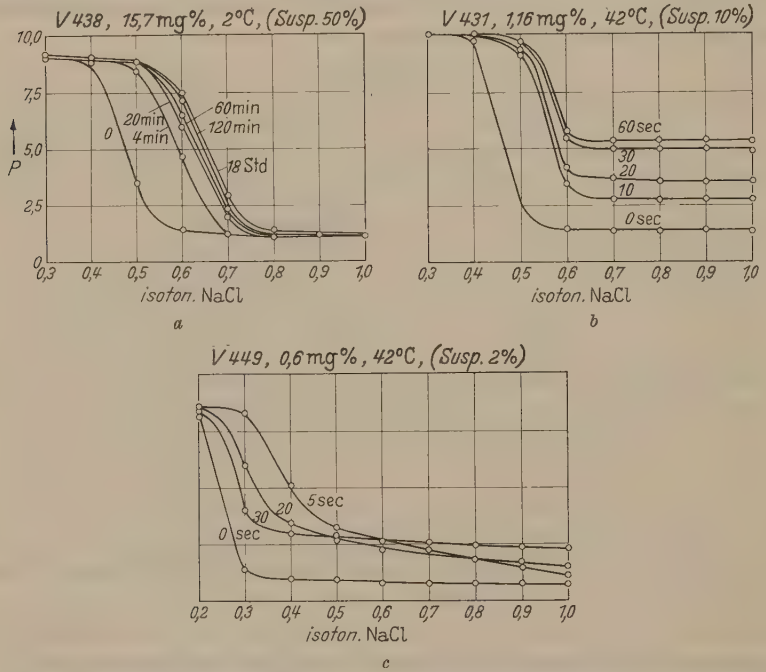


Abb. 2. Osmotische Resistenz bei Digitoninhämolyse in verschieden konzentrierten Zellsuspensionen. Rindererythrocyten. Abszisse: Konzentration der Kochsalzlösung, Ordinate: Photometrische Ablesung.

Bei 2° C kann dann die Hebungskomponente ganz fehlen, so daß ausschließlich der Typ der seitlichen Verschiebung vorliegt (siehe Beispiel in Abb. 2a). Bei 42° C (Abb. 2b) beobachtet man unter solchen Bedingungen nicht selten, daß die initiale Rechtsverschiebung bei späteren Entnahmen wieder zurückgeht, so daß schließlich ein reiner Hebungstyp resultiert (Abb. 2c).

Die merkwürdige Erscheinung des Rückgangs der osmotischen Resistenz trat nur bei hochverdünnten Suspensionen (1:50) auf, nicht dagegen bei 10%igen Suspensionen. Sie war außerdem nur bei niedrigen Digitoninkonzentrationen zu beobachten und verschwand bei höheren ganz (z. B. in einem Versuch: 0,6 mg% + +, 0,7 mg% +, 0,8 mg% ±, 0,9 mg% —).

Für die mit verschiedenen Digitoninkonzentrationen im Gleichgewicht ermittelten Endkurven der osmotischen Resistenz zeigt Abb. 3 Beispiele für 2° C und 42° C. Die Kurvenscharen ähneln weitgehend denjenigen, die mit einer und derselben Konzentration bei zeitlich abgestuften Bestimmungen gewonnen werden.

Sie zeigen einen weiteren Unterschied der Wirkung bei den beiden Temperaturen, nämlich die verschiedene Abhängigkeit der Wirkung von der Konzentration. Während bei 42° die erste bemerkbare und die

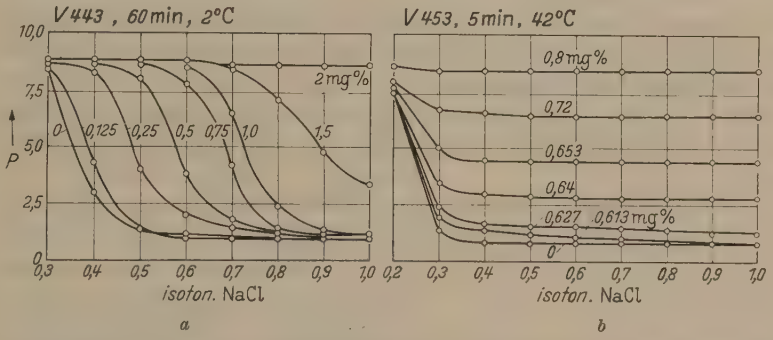


Abb. 3. Osmotische Resistenz bei Digitoninhämolyse bei verschiedenen Temperaturen. Rindererythrocyten. Abszisse: Konzentration der Kochsalzlösung, Ordinate: Photometrische Ablesung.

maximale Wirkung bei den Konzentrationen 0,61 und 0,8 mg-% Digitonin liegen, also einem Konzentrationsverhältnis von etwa 3:4 entsprechen, sind die entsprechenden Zahlen bei 2° C 0,125 und 2,0 mg-%, was einem Verhältnis von 1:16 entspricht.

b) Der Einfluß der Digitoninkonzentration. Das Auftreten der beiden Hämolysetypen hängt nicht nur von der Temperatur ab, sondern auch von der Konzentration des Digitonins und der Suspensionen.

Zur Frage der Konzentration ist zunächst folgende Bemerkung zu machen. Wie Schmidt-Thomé gezeigt hat[8] und wie sich auch mit den von uns verwendeten Kriterien ergab, hängt die Wirkung quantitativ nicht von der molaren Konzentration des Digitonins ab, sondern von ihrem Verhältnis zur Zellkonzentration, mit anderen Worten von der Menge Digitonin pro Zelle*. Die gleiche hämolytische Wirkung kann also in

* Nach Jung u. Böhm[1] ist die Menge Digitonin pro Zelle nicht konstant, d.h. Zellzahl Z und lytische Digitoninkonzentration C nicht proportional ($Z = K \cdot C$), sondern es gilt $Z^2 = K \cdot C$. Wir konnten diese auch in der Arbeit Jung u. Wirth[3] belegte Beziehung bei Variation der Zellkonzentration 1:50 nicht bestätigen, sondern fanden nur eine geringfügige Abweichung von $Z = K \cdot C$ (in der gleichen Richtung wie Jung). Die Frage wurde aber nicht eingehend untersucht, insbesondere wurde nicht geprüft, ob die von Jung beschriebenen Zonenerscheinungen mitspielen, die nach ihrer Richtung die Diskrepanz gegenüber den Jungschen Resultaten möglicherweise erklären könnten.

verdünnten Suspensionen schon mit sehr niedrigen, bei hoher Zellkonzentration erst bei entsprechend höheren absoluten Digitoninkonzentrationen erzielt werden. Das macht eine Unterscheidung nötig zwischen der Digitoninmenge pro Zelle und der absoluten Konzentration.

Erhöht man die *Digitoninmenge pro Zelle*, so wird sowohl bei 2° C als bei 42° C das beobachtete Verhalten mehr dasjenige eines Kombinationstyps. Zu der bei niedrigeren Digitoninmengen vorherrschenden Komponente tritt also in steigendem Ausmaß jeweils die andere, d. h. bei 2° C der Hebungstyp, bei 42° C der seitliche Verschiebungstyp. Bei 42° ist dieses Verhalten nur bei den kürzesten experimentell realisierbaren Zeiten zu erkennen (Abb. 4a). Für das entsprechende Verhalten bei 2° C gibt Abb. 4b ein Beispiel.

Neben der Menge pro Zelle beeinflußt aber auch die *absolute Konzentration* des Digitonins den Hämolysetyp, d. h. bei gleicher Digitonin-

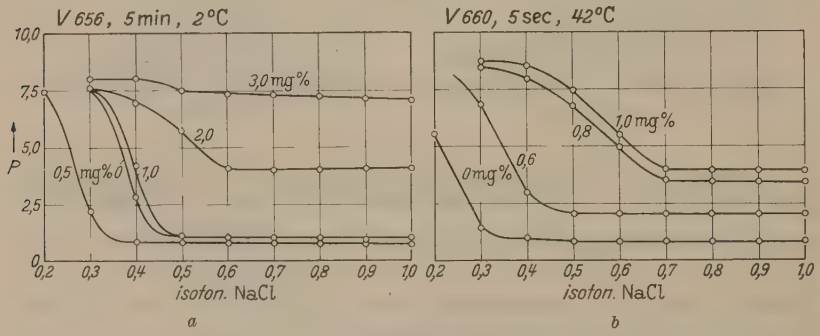


Abb. 4. Osmotische Resistenzkurven nach verschiedenen Zeiten in abgestuften Digitoninkonzentrationen bei zwei verschiedenen Temperaturen.

menge pro Zelle kann der Typ verschieden sein, je nachdem ob eine hohe Zellkonzentration mit hoher absoluter Digitoninkonzentration oder niedrige Konzentrationen verwendet werden. Höhere absolute Konzentration begünstigt den seitlichen Verschiebungstyp, niedrigere den Hebungstyp. Der Unterschied ist bei 42° C markanter als bei 2°, jedoch bei der letzteren Temperatur ebenfalls wahrnehmbar. Für das Verhalten bei 42° gibt Abb. 5 ein Beispiel. In diesem Versuch, in dem das Außenvolumen nur das zweifache Zellvolumen ist und daher hohe absolute Digitoninkonzentrationen bis zu 50 mg-% zur Verwendung kommen, zeigen die Resistenzkurven nach 120 sec (nach dieser Zeit ist das Gleichgewicht praktisch erreicht) in sehr viel deutlicherem Ausmaß eine Komponente der seitlichen Verschiebung als etwa in den in Abb. 3 gezeigten Kurven.

Die bisher besprochenen Versuche zeigen, daß die beiden beobachteten Typen der Hebung und der seitlichen Verschiebung in recht komplexer Weise von verschiedenen Versuchsbedingungen abhängen. Der seitliche Verschiebungstyp wird begünstigt durch niedrige Temperatur,

durch hohe absolute Digitoninkonzentration (in einem großen Konzentrationsbereich) ferner von der Digitoninmenge pro Zelle in der Weise, daß bei niedriger Temperatur eine niedrige, bei hoher Temperatur eine hohe Digitoninmenge die Komponente der seitlichen Verschiebung fördert.

2. Die Natur der seitlichen Verschiebung. In bezug auf die Frage, ob die seitliche Verschiebung der osmotischen Resistenzkurven im Sinne einer kolloid-osmotischen Hämolyse oder einer Grenzvolumhämolyse zu deuten ist, sind schon aus den bisher besprochenen Versuchen einige Hinweise zu entnehmen.

Zunächst fällt die Tatsache auf, daß bei niedrigen Digitoninkonzentrationen die Verschiebung fast zum Stillstand kommt oder sich jedenfalls stark verlangsamt, bevor Hämolyse eintritt. Diese schon oben erwähnte Tatsache wäre mit einer kolloid-osmotischen Natur der Hämolyse nur dann vereinbar, wenn die durch Digitonin gesetzte Steigerung der Kationenpermeabilität nach Erreichung eines bestimmten Schwellungsvolumens aus irgendeinem Grund wieder aufgehoben würde (da bei gegebenem Permeabilitätsgrad ein Gleichgewicht für die osmotische Schwellung nicht besteht und sie bis zum hämolytischen Volumen fortschreiten müßte). Noch größere Schwierigkeiten für die Deutung im Sinne einer kolloid-osmotischen Hämolyse bietet der Rückgang der seitlichen Verschiebung, der unter bestimmten Versuchsbedingungen (siehe oben) beobachtet wird.

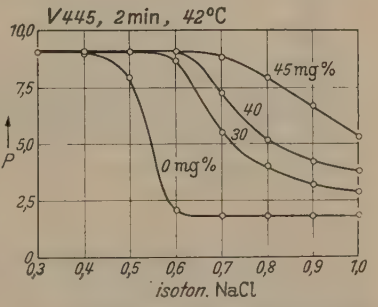


Abb. 5. Osmotische Resistenzkurven nach 2 min Einwirkung von Digitoninlösungen abgestufter Konzentrationen bei 42° C. Rindererythrocyten. Abszisse: Konzentration der Kochsalzlösung, Ordinate: Photometrische Ablesung.

Die genauere quantitative Untersuchung der Seitenverschiebung zeigt allerdings, daß der Stillstand im allgemeinen kein vollkommener ist, sondern daß es vielmehr nach kurzer Zeit zu einer hochgradigen Verlangsamung der Verschiebung kommt. Berechnet man aus der seitlichen Verschiebung das scheinbare Schwellungsvolumen (das Volumen, das der gleichen seitlichen Verschiebung bei einer reinen kolloid-osmotischen Schwellung entsprechen würde), so erhält man Kurven, wie sie in Abb. 6 dargestellt sind. Ein vollständig konstantes Niveau wird in diesen Kurven nicht oder erst nach recht langer Zeit erreicht. Offenbar enthalten die Kurven zwei Komponenten verschiedener Geschwindigkeit.

Das erreichte Niveau hängt außerdem, wie Abb. 6 zeigt, nicht nur von der Digitoninkonzentration ab (Abb. 6a), sondern außerdem bei gleicher Konzentration auch von der Temperatur (Abb. 6b). Höhere Temperatur führt zu höherem scheinbarem Schwellungsvolumen. Die

Temperatur beeinflußt also hier nicht nur die Geschwindigkeit, sondern auch das Gleichgewicht der Veränderung.

Quantitative Tests zur Erkennung der kolloid-osmotischen Hämolyse, der Kompensations- sowie der Geschwindigkeitstest[15], basieren darauf, daß im allgemeinen bei mäßigen Graden von Kationenpermeabilitätssteigerung eine Durchlässigkeit der Erythrocytenmembran für Rohrzucker noch nicht eintritt, so daß der kolloid-osmitische Druck des Hämoglobins innen durch eine entsprechende Saccharosekonzentration außen kompensiert werden kann. Die Schwellung und die mit ihr verbundene seitliche Verschiebung der Resistenzkurven werden dann unterdrückt oder je nach Saccharosekonzentration in Richtung und Geschwindigkeit verändert. Entsprechende Versuche bei der Digitoninhämolyse haben regelmäßig ergeben, daß selbst hohe Saccharosekonzentrationen, die bei kolloid-osmotischer Hämolyse nicht nur die Schwellung verhindern, sondern in Schrumpfung umkehren würden, zu keinerlei Verminderung der seitlichen Verschiebung der Resistenzkurven führen. In einer Anzahl von Versuchen wurde sogar eine Verstärkung beobachtet (Abb. 7). Die durch Digitonin gesetzte Änderung müßte also, wenn es sich um eine kolloid-osmotische Hämolyse handeln würde, in sehr ungewöhnlicher Weise mit hochgradiger Durchlässigkeitssteigerung für das große Rohrzuckermolekül verbunden sein.

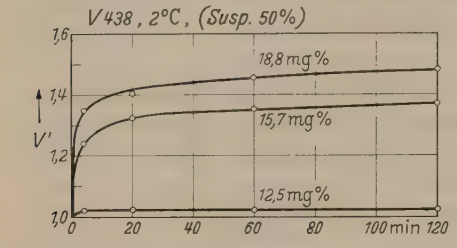


Abb. 6a. Scheinbare Volumkurven (berechnet aus der Verschiebung der osmotischen Resistenz) von Rinderblut bei Einwirkung abgestufter Digitoninkonzentration bei 2° C.

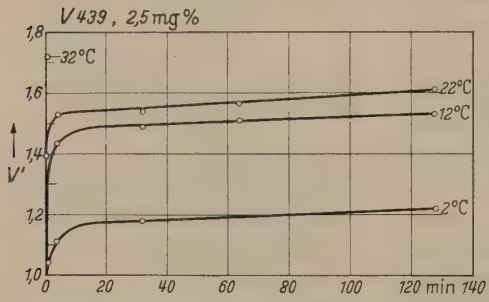


Abb. 6b. Scheinbare Volumkurven (berechnet aus der Verschiebung der osmotischen Resistenz) von Rinderblut in 2,5 mg-% Digitonin bei verschiedenen Temperaturen

Schließlich wurden Hämatokritvolumina bestimmt, die in Abb. 8 dargestellt sind. Sie wurden bei 2° C ausgeführt und die relativen Volumina (bezogen auf eine digitoninfreie Suspension = 1) wurden gegen das scheinbare Schwellungsvolumen, das aus der seitlichen Verschiebung der Resistenzkurven errechenbar ist, aufgetragen. Für osmotische und kolloid-osmotische Hämolysen ergibt eine solche Auftragung eine Gerade mit einer Neigung von etwa 0,5[15]. Für die Versuche mit Digitonin ist eine

geringfügige Steigerung des Hämatokritvolumens bei seitlicher Verschiebung der Resistenzkurven zwar nachweisbar, die Neigung der durch die Meßpunkte gelegten Regressionsgeraden ist aber ganz bedeutend geringer als für echte osmotische Hämolysen. Der Regressionskoeffizient beträgt 0,08 also $^1/_6$ desjenigen osmotischer Hämolysen.

Diese Bestimmungen bilden eine Bestätigung der aus anderen Beobachtungen gezogenen Schlußfolgerung, daß eine ausschließliche oder vorwiegende kolloid-osmotische Natur der Hämolyse nicht vorliegen kann. Dagegen zeigt sich eine geringe Schwellungskomponente, aus der geschlossen werden muß, daß auch die Kaionenpermetabilität der Membran etwas gesteigert wird. Möglicherweise ist die Tatsache, daß die scheinbaren Schwellungskurven sich zwar nach einem raschen initialen Anstieg stark abschwächen, aber doch noch leicht ansteigenden Verlauf zeigen, darauf zurückzuführen, daß hier eine langsame Kationenpenetration erfolgt (die wie oben erwähnt, nicht zu einem Gleichgewichtsvolumen führen kann).

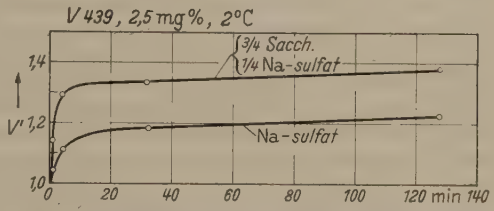


Abb. 7. Scheinbare Volumkurven (berechnet aus der Verschiebung der osmotischen Resistenz) von Rinderblut in 2.5 mg-% Digitonin bei 2° C in isotonischen Lösungen von Natriumsulfat und von $^3/_4$ Saccharose und $^1/_4$ Natriumsulfat Näheres im Text.

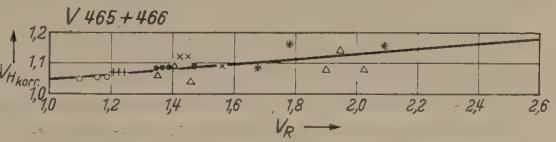


Abb. 8. Hämatokritschwellungen der Erythrocyten in Digitoninlösungen, verglichen mit den Volumänderungen, die sich aus der Verschiebung der osmotischen Resistenz berechnen. $VH_{korr.}$: Hämatokritvolumen, korrigiert für den quantitativ bestimmten Hämolysegrad. VR: Volumen berechnet aus der Verschiebung der osmotischen Resistenzkurven.

Das Ergebnis der Prüfung ist also auch in bezug auf die Diferenzierung zwischen kolloid-osmotischer Hämolyse und Grenzvolumhämolyse der Schluß, daß ein kombinierter Typ vorliegt, allerdings quantitativ durchaus vorwiegend der Typ der Grenzvolumhämolyse. Die Digitoninhämolyse erweist sich somit bei genauerer Analyse als Kombination aller drei Typen.

Diskussion.

Die Versuche haben erstens gezeigt, daß die Digitoninhämolyse in den beiden Formen einer nichtosmotischen Hämolyse und in Form einer Grenzvolumhämolyse (Änderung des kritischen Hämolysevolumens) auftreten kann, ferner daß das Auftreten der einen oder der anderen Form von verschiedenen Versuchsbedingungen abhängig ist und daß im allgemeinen Kombinationstypen beobachtet werden, bei denen allerdings

der eine oder der andere Typ sehr weitgehend überwiegen kann. Schließlich hat sich ergeben, daß neben der Änderung des Hämolysevolumens auch eine gewisse Schwellung beteiligt ist, die im Sinne einer kolloid-osmotischen Hämolyse zu deuten ist.

Daß die Digitoninhämolyse am Cholesterin der Zellmembran angreift, kann nach den Ergebnissen von Schmidt-Thomé als gesichert betrachtet werden[1]. Daß sie noch weitere Angriffspunkte im Sinne von Receptoren für die Bildung eines Komplexes mit Digitonin besitzt, ist durch Schmidt-Thomés Untersuchungen unwahrscheinlich geworden. Die Frage, ob diesem Hämolysemechanismus mit nur einem Angriffspunkt ein reiner unvermischter und von den Versuchsbedingungen unabhängiger Hämolysetyp entspricht, ist in negativem Sinn beantwortet worden. Es fragt sich daher weiter, ob trotz der recht überzeugenden Ergebnisse und Schlußfolgerungen Schmidt-Thomés ein (oder mehr als ein) weiterer Angriffspunkt des Digitonins angenommen werden soll oder ob das Auftreten der verschiedenen Typen sich mit der Wirkung von nur einem Receptor, nämlich dem Cholesterin, in Einklang bringen läßt.

Eine definitive Antwort auf diese Frage läßt sich aus den bisher vorliegenden Resultaten nicht geben. Immerhin scheint es angezeigt, die Möglichkeiten zu erörtern, die für die letztere Interpretation zur Verfügung stehen würden.

Es wurde schon früher darauf hingewiesen, daß die nicht-osmotische Hämolyse in ihrem Mechanismus durchaus identisch mit der kolloid-osmotischen Hämolyse sein kann, sofern nämlich bestimmte kinetische Voraussetzungen für die kolloid-osmotische Schwellung erfüllt sind. Erfolgt die Schwellung nach beträchtlicher und von Zelle zu Zelle stark streuender Latenz mit relativ großer Geschwindigkeit, so muß die Hämolyse, wie an anderer Stelle ausführlicher erörtert und graphisch illustriert worden ist, den Typ der nicht-osmotischen Hämolyse annehmen. Das gleiche gilt mutatis mutandis für die Grenzvolumhämolyse.

Trotz dieser Möglichkeit bereitet es nicht unerhebliche Schwierigkeiten, sich den Übergang vom einen zum anderen Typ bei Wechsel der Versuchsbedingungen vorzustellen, insbesondere weil die beiden Formen meist ohne Übergänge (die sich u.a. in Abschrägung der Resistenzkurve äußern würden) nebeneinander zu bestehen scheinen.

Leichter läßt sich eine Kombination von Grenzvolumhämolyse und kolloid-osmotischer Schwellung vorstellen. Daß eine Änderung, die zum Eintritt der Schwellungshämolyse schon bei kleinerem Volumen führt, gleichzeitig gesteigerte Kationenpermeabilität auslöst, läßt sich auf Grund des gemeinsamen Zuges der Lockerung der Membranstruktur, der in beiden Wirkungen erblickt werden kann, vorstellen.

Auf einen anderen Punkt hat Jung[2] hingewiesen, daß nämlich der Assoziationsgrad des Digitonins wechselnde Werte annehmen kann. Seine Annahme steht jedoch nicht in Übereinstimmung mit den Resultaten von Ruyssen u. Loos[5], die nur monodisperse Lösungen finden.

Vielleicht ist an die Möglichkeit zu denken, daß zwar der Angriffspunkt des Digitonins bei allen Hämolyseformen das Cholesterin ist, daß aber Cholesterin in

[1] Es ist allerdings darauf hinzuweisen, daß die stöchiometrische 1 : 1 Beziehung zwischen Digitonin- und Zellcholesterinmenge aus den Schmidt-Thomeschen Versuchen zunächst nur für lytische Digitoninkonzentrationen hervorgeht, bzw. sogar nur für Konzentrationen, die relativ rasch hämolysieren. Daß auch bei niedrigeren Konzentrationen, wie sie in den vorliegenden Versuchen verwendet wurden, Cholesterin der einzige Rezeptor ist, ist damit vielleicht nicht strikt erwiesen, aber doch eher wahrscheinlich. Herr Professor Lendle war so freundlich, mich auf eine Untersuchung aufmerksam zu machen, die in seinem Institut von G. Gessner ausgeführt worden ist und in der eine Bindung von Digitonin an Eiweiß nicht gefunden wurde. (Dissertation Münster 1943, nicht gedruckt.)

verschiedenen Bindungsformen in die Membran eingebaut ist, und daß sich die Komplexbindung des Digitonins an Cholesterin je nach Bindungsform verschieden äußert.

Für die Theorie der Hänolyse ist aus den Resultaten wohl zu schließen, daß ihre experimentelle Basis sich nicht auf die Beziehung zwischen prozentualer Hämolyse und Digitoninkonzentration beschränken sollte, da der gleiche Hämolysegrad bei verschiedenen Typen offenbar nicht das gleiche bedeuten dürfte. Der ansprechende Versuch von RUHENSTROTH[4], die kritische Größe in der Belegung der Zelloberfläche mit Digitoninmolekülen zu sehen, der von JUNG kritisiert wurde, könnte auf entsprechend veränderter Basis interessante Aussichten bieten.

Zusammenfassung.

Die Digitoninhämolyse wurde mit Hilfe der Kriterien, die aus dem Verhalten der osmotischen Resistenz und des Hämatokritvolumens in früheren Arbeiten abgeleitet worden waren, analysiert.

Obwohl nach den Arbeiten von SCHMIDT-THOMÉ für die Digitoninhämolyse ein (und wahrscheinlich nur ein) bestimmter Angriffspunkt (Membran-Cholesterin) anzunehmen ist, ergab sich kein einheitlicher Hämolysetyp. Die Hämolyse besitzt Komponenten im Sinne einer nichtosmotischen Hämolyse und einer Grenzvolumhämolyse, außerdem eine quantitativ geringere Komponente einer kolloid-osmotischen Schwellung. Der quantitative Anteil dieser Komponenten wechselt stark je nach den Versuchsbedingungen, unter denen den stärksten Einfluß die Temperatur zeigt. Bei niedrigen Temperaturen kann die Hämolyse fast oder ganz rein den Typ der Grenzvolumhämolyse zeigen, bei hohen Temperaturen fast oder ganz rein den Typ der nichtosmotischen Hämolyse. Neben der Temperatur erwiesen sich die absolute Digitoninkonzentration und die Digitoninmenge pro Zelle als modifizierende Faktoren.

Es wird die Anschauung vertreten, daß ein weiterer Angriffspunkt des Digitonins zwar nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, daß aber eher Querverbindungen zwischen den drei Typen, z. B. in Form gemeinsamer Elemente, oder kausaler Verknüpfung, anzunehmen seien.

Literatur.

[1] JUNG, F., u. K. BÖHM: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 144—158 (1949). — [2] JUNG, F., u. I. SCHWARTZKOPFF: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 556—567 (1952). — [3] JUNG, F., u. L. WIRTH: Arch exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 328—335 (1950). — [4] RUHENSTROTH-BAUER, G.: HOPPE-SEYLERS Z. **287**, 221—224 (1951). — [5] RUYSSEN, R., and R. J. LOOS: J. Colloid Sci. **2**, 429 (1947). — [6] SCHMIDT-THOMÉ, J.: HOPPE-SEYLERS Z. **275**, 183—189 (1942). — [7] SCHMIDT-THOMÉ, J.: HOPPE-SEYLERS Z. **275**, 207—214 (1942). — [8] SCHMIDT-THOMÉ, J., u. F. PREDIGER: HOPPE-SEYLERS Z. **286**, 127—138 (1950). — [9] WILBRANDT, W.: Pflügers Arch. **241**, 289—309 (1938). — [10] WILBRANDT, W.: Pflügers Arch. **245**, 22—52 (1941). — [11] WILBRANDT, W.: Helvet. physiol. Acta **6**, 234—246 (1948). — [12] WILBRANDT, W.: Pflügers Arch. **250**, 569—576 (1948). — [13] WILBRANDT, W., u. S. FREI: Helvet physiol. Acta **10**, C60—61 (1952). — [14] WILBRANDT, W.: Helvet. physiol. Acta **11**, C32—33 (1953). — [15] WILBRANDT, W.: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 1023. — [16] WILBRANDT, W.: Helvet. physiol. Acta **12**, 184—190 (1954).

Prof. Dr. W. WILBRANDT, Bern/Schweiz, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 474—478 (1955).

Aus der Pharmakologischen Abteilung der Medizinischen Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen (Leiter: Prof. Dr. Dr. W. Koll).

Der Musculus orbitalis und das obere Halsganglion der Ratte als pharmakologische Testobjekte*.

Von
Hans Kaller.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Februar 1955.)

Die Aufgabe, eine Reihe von Substanzen, die nur in geringer Menge zur Verfügung standen, auf eine ganglienblockierende Wirkung zu prüfen, ergab die Frage nach einem kleineren und leichter beschaffbaren Testobjekt, als es das Nickhaut-Ganglien-Präparat der Katze ist. Als geeignet erwies sich der Musculus orbitalis und das obere Halsganglion der Ratte. Es war allerdings wegen der anatomischen Gegebenheiten bisher noch nicht möglich, alle an der Katze durchführbaren Versuchsanordnungen einfach auf die Ratte zu übertragen.

Der Musculus orbitalis, der auch unter dem Namen Müllerscher Augenmuskel bekannt ist, wird sympathisch über das obere Halsganglion innerviert. Seine Kontraktion bewirkt eine Protrusion des Augapfels. Diese Protrusion ist bei der Ratte sehr deutlich ausgeprägt: Sie kann bis zu 2 mm betragen, d. h. etwa $^1/_3$ des Bulbus-Durchmessers. Maximale Protrusionen lassen sich nur durch Injektion relativ hoher Adrenalindosen auslösen. Bei elektrischer Reizung des Halssympathicus beträgt die Protrusion selten mehr als 1,5 mm. Die Protrusion ist eine in Abhängigkeit von der Reizstärke quantitativ gestufte Reaktion, die sich leicht und exakt registrieren läßt (siehe unten).

Es soll hier eine Versuchstechnik beschrieben werden, bei der neben der präganglionären Reizung die lokale Aufbringung von Lösungen der zu untersuchenden Substanzen auf das Halsganglion möglich ist. Die Beschreibung dieser einfachen Technik soll vor allem auch dazu dienen, die grundsätzliche Versuchsanordnung für das Arbeiten mit dem M. orbitalis als Testobjekt, z. B. bei routinemäßiger Vorprüfung von Substanzen, zu zeigen. Natürlich kann diese Methode eine exakte pharmakologische Analyse bei wirksam befundenen Substanzen nicht überflüssig machen.

Die Konzentrationen wirksamer Substanzen, die nach lokaler Applikation bei der Ratte zu einer totalen Blockierung des Halsganglion führen, liegen wegen der Kleinheit des Organs und der infolgedessen

* Herrn Professor Dr. Paul Wels, Greifswald, zum 65. Geburtstag gewidmet.

relativ kurzen Diffusionsstrecken erheblich niedriger als die Konzentrationen, die an der Katze zur Blockierung von Ganglien notwendig sind. So haben z. B. Langley u. Dickinson bei ihren grundlegenden physiologischen Untersuchungen an Katzenganglien 0,5—1%ige Nicotinlösungen lokal angewendet, während beim Halsganglion der Ratte bereits 0,01—0,02%ige Nicotinlösungen zur vollkommenen Blockierung ausreichen.

Versuchsanordnung.

Narkose, Lagerung. Die Versuchstiere erhalten eine Urethannarkose mit 1,25 bis 1,75 g/kg, und zwar je die Hälfte der Gesamtmenge subcutan und intramuskulär. Die Urethannarkose wurde gewählt, da sie nach Brücke, Macho u. Werner die Funktion der Ganglien am wenigsten beeinflussen soll.

Die Fühlhaare werden abgeschnitten. Das Tier wird in Rückenlage auf einem Operationsbrett befestigt, welches an seinem Kopfende in der Höhe verstellbar ist (Schraube), um zur Registrierung das Auge des Tieres in die geeignete Höhe bringen zu können. Der Kopf des Tieres wird durch einen Kopfhalter mit einem fest hinter den oberen Nagezähnen sitzenden Metallbügel und einer Nackenstütze fixiert.

In das Rectum wird ein Thermometer eingeführt, das eine laufende Kontrolle der Körpertemperatur ermöglicht.

Präparation des re. Halsganglion, Elektroden. Nach einem medialen Hautschnitt vom Unterkiefer bis über das Sternum werden das subcutane Fettgewebe, die Speicheldrüsen und Lymphknoten in der Mittellinie getrennt und nach beiden Seiten abgeschoben. Die dicke Vena jugularis ext. liegt in diesem Fettgewebe. Sie darf zur Vermeidung von Stauungen im Venengebiet der Orbita nicht unterbunden werden.

Die Fasern des M. sternohyoides werden in der Medianlinie auseinandergedrängt und damit die Trachea freigelegt. Auf der *re.* Seite des Tieres wird nunmehr der M. sternomastoideus mobilisiert und zwischen 2 Klemmen durchtrennt. Die Klemmen können nach einigen Minuten wieder abgenommen werden. Ebenso werden der M. omohyoides und der M. sternohyoides gemeinsam durchtrennt und nach oben und unten geklappt. Der Gefäßnervenstrang des Halses liegt dann vom Sternum bis zum Zungenbein frei. Der M. sternohyoides der Gegenseite wird mit einem Haken nach links außen gezogen.

Es ist bei der Ratte nicht möglich, den Halssympathicus unverletzt zu isolieren. Deshalb wird der gesamte Gefäßnervenstrang (mit A. carotis, Vv. laryngicae sup und inf., N. vagus und Sympathicus) auf eine Strecke von etwa 1,5 cm mobilisiert und später auf die Reizelektroden gelegt. Um Störungen des Versuches durch afferente oder efferente Vagusimpulse zu vermeiden, wird — am besten vor der Mobilisierung — der Vagus dicht über dem Schlüsselbein und etwa in Höhe der Teilungsstelle der Carotis durchtrennt. Zur Mobilisierung löst man den Gefäßnervenstrang von *lateral* zusammen mit dem umgebenden Bindegewebe von der Unterlage ab.

Das obere Halsganglion liegt der A. carotis interna medial an, und zwar dicht oberhalb der Teilungsstelle der Carotis communis. Zur Orientierung dient der Kehlkopf: Das Ganglion befindet sich etwa in Höhe der Grenze zwischen Schild- und Ringknorpel. Über den oberen Pol des Ganglion zieht die A. thyreoidea sup. hinweg (aus der Carotis externa). Sie wird unterbunden und durchschnitten. Die Carotis externa wird vorsichtig gefaßt und unter leichtem Zug nach lateral von der hinteren Halsmuskulatur abpräpariert, bis das Ganglion als spindeliges,

glasiges Gebilde sichtbar wird. Nunmehr wird die Carotis externa dicht oberhalb des Ganglion mit einem Faden angeschlungen. Dieser Faden wird später nach lateral angespannt und fixiert, so daß das Ganglion frei zugänglich wird.

Die gesamte Präparation läßt sich ohne jede Blutung ausführen. Eine Assistenz ist nicht erforderlich, wenn man zur Halterung des Gewebes passend gebogene Drahthaken verwendet, die mit Hilfe dünner Gummibänder am Operationsbrett befestigt werden. Die auf der re. Seite des Tieres befindlichen Haken müssen nach Beendigung der Präparation gelockert oder abgenommen werden, um eine Stauung der V. jugularis zu vermeiden. Eine gewebsschonende Halterung läßt sich auch erreichen, indem man die Stümpfe der durchschnittenen Halsmuskeln mit kleinen federnden Klemmen faßt und diese an Gummifäden nach den entsprechenden Richtungen hin fixiert.

Der Kopf des Tieres wird um etwa 30—40° nach li. gedreht, so daß die Achse des re. Auges etwa horizontal steht.

Die verwendeten Reizelektroden bestehen aus einem Plexiglaskörper (etwa 12 mm breit) mit einer etwa 1 mm breiten Auskehlung zur Aufnahme des Gefäßnervenstranges. In den Elektrodenkörper sind im Abstand von 3 mm 2 Silberdrähte eingezogen, die in der Auskehlung bogenförmig enden. Man schiebt die Elektroden von lateral her auf den Strang. Die Zuleitungsdrähte werden leicht am Operationsbrett befestigt (Streifen von Klebepflaster). Die Auskehlung des Elektrodenkörpers wird dann zum Schutz gegen Austrocknung des Gewebes mit Vaseline zugestrichen.

Der um die Carotis externa liegende Haltefaden wird jetzt nach lateral gespannt und fixiert: Das Ganglion liegt frei. Das Wundgebiet oberhalb der Elektroden wird mit einem Stück Filterpapier, das mit physiologischer Kochsalzlösung getränkt ist, abgedeckt. Hierbei ist darauf zu achten, daß keine Kochsalzlösung in den Elektrodenkörper hineinläuft (Widerstandsänderung).

Zum Schluß wird die Trachea unterhalb des Kehlkopfes quer durchschnitten, wobei eine Verletzung der neben der Trachea laufenden Gefäße zu vermeiden ist. Das Einbinden einer Trachealkanüle erwies sich als unzweckmäßig, da der Fremdkörperreiz häufig zu einer Verschleimung der Kanüle führt. Jede Atembehinderung führt aber zu einer Adrenalinausschüttung und damit zu einer Protrusion.

Registrierung, Reizung. Die Registriereinrichtung besteht aus einem Winkelhebel (Hebelarm etwa 20 mm), der mit einer kleinen Pelotte der Cornea anliegt. Durch ein Gegengewicht (etwa 400 mg) wird der Hebel leicht angedrückt. An dem Hebel ist ein kleiner Spiegel befestigt, durch den ein spaltförmiger Lichtstrahl abgelenkt wird, der dann durch ein Photokymographion aufgezeichnet wird. — Durch ein geeignetes leicht gehendes Hebelsystem kann die Registrierung auch auf einer Rußtrommel erfolgen.

Die Reizung geschieht durch Rechteckimpulse mit einer Frequenz von 3 bis 10 Hz. Höhere Frequenzen bringen keine wesentliche Verstärkung des Reizerfolges. Die Dauer des Einzelimpulses beträgt 0,1—0,5 msec. Die zur Reizung des Sympathicus erforderlichen Stromstärken liegen zwischen 0,2 und 4 mA, je nachdem, ob der Sympathicus den Elektroden zufällig unmittelbar anliegt oder durch dazwischenliegendes Gewebe mehr oder weniger weit von ihnen getrennt ist. Im Versuch wird man stets sicher übermaximale Stromstärken anwenden, um zu vermeiden, daß durch eventuelle Widerstandsänderungen an den Elektroden (Verschiebungen, Blutungen) hemmende oder fördernde Effekte vorgetäuscht werden. Allzu hohe Stromstärken sind jedoch im Hinblick auf die Möglichkeit einer Gewebsschädigung zu vermeiden. Es wird regelmäßig alle 3 min gereizt, und zwar jeweils 30 sec lang. Eine automatische Reizauslösung durch ein geeignetes Zeitrelais hat sich als zweckmäßig erwiesen.

Applikation der Lösungen. Vor Aufbringung einer Lösung der zu untersuchenden Substanz wird zunächst das Ganglion und das umgebende Gewebe mit Filterpapier trocken getupft. Dann wird ein kleines Stückchen Filterpapier (etwa 5 × 5 mm) mit der betreffenden Lösung getränkt und auf das Ganglion aufgelegt. Das Filterblättchen muß tropfend naß sein, um zu vermeiden, daß durch Diffusionsausgleich

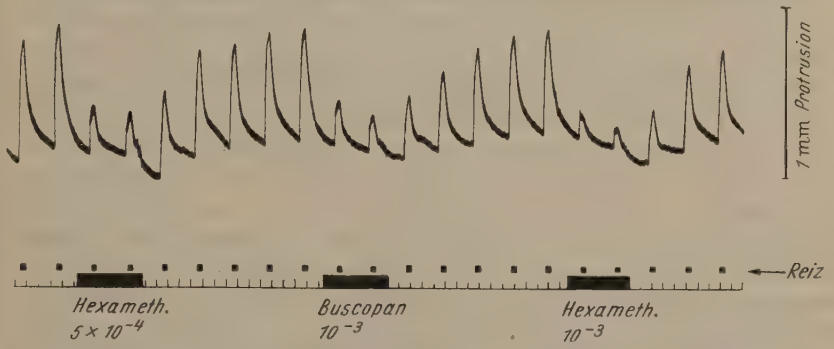


Abb. 1. Ausschnitt aus einem Versuch. Zeitschreibung 1 min. Reizstrom: Impulsfrequenz 4 Hz. Dauer des Einzelimpulses 0,2 msec, Stromstärke 1 mA. Reizung alle 3 min jeweils 30 sec lang.

während der Reaktionszeit eine wesentliche Verminderung der wirksamen Konzentration stattfindet. Nach 5 min Einwirkungsdauer (2 Reizungen) hat im allgemeinen der Effekt seinen Endwert erreicht, und das Filterblättchen kann abgenommen werden. Die am Ganglion und am umgebenden Gewebe haftende Lösung wird abgetupft. Das Wundgebiet wird dann mit einem mit Kochsalzlösung getränktem Filterpapier abgedeckt. Innerhalb weniger Minuten erreicht das Ganglion wieder seine volle Erregbarkeit.

Zur Demonstration des Versuchsablaufes ist in Abb. 1 ein Ausschnitt aus einem Versuch wiedergegeben. An einer Ratte lassen sich über 25 derartiger Testungen durchführen. Während der ersten 2 bis 3 Testungen nimmt in der Regel die Empfindlichkeit des Ganglion gegenüber blockierender Substanzen zu. Ebenso pflegen im Anfang des Versuches die Protrusionen etwas kleiner zu werden.

Abhängigkeit der Wirkung von der Konzentration.

Mit verschiedenen Konzentrationen eines Ganglienblockers lassen sich quantitativ gestufte Verminderungen des Reizerfolges erreichen. Die Abb. 2 zeigt die Konzentrationswirkungskurve des Hexamethonium. Die „Hemmung" wurde ermittelt, indem jeweils die Protrusion bei der zweiten Reizung nach Aufbringung der Lösung in

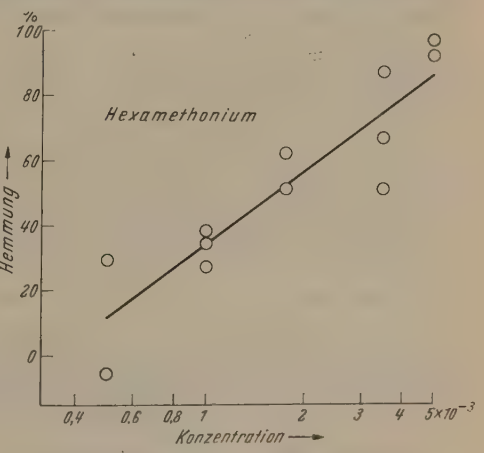


Abb. 2. Konzentrationswirkungskurve des Hexamethonium bei lokaler Applikation.

Beziehung gesetzt wurde zur Protrusion bei der letzten Reizung vor der Applikation. Die statistischen Analysen der bisher durchgeführten Versuche ergaben keinen Anhalt für die Nicht-Linearität der Konzentrationswirkungskurven.

Bei total blockierenden Konzentrationen wird häufig nicht nur die Protrusion völlig unterdrückt, sondern es kommt sogar zu einem Zurücksinken des Augapfels bei Reizung am Gefäßnervenstrang. Dieses Zurücksinken läßt sich gelegentlich auch ohne Behandlung des Ganglion bei Reizung mit Schwellenstromstärken beobachten. Die Leitungsbahnen, die das Zurücksinken bewirken, werden wahrscheinlich *nicht* im oberen Halsganglion umgeschaltet, da der Effekt auch nach totaler Blockierung des Ganglion erhalten bleibt und oft überhaupt erst dann sichtbar wird.

Die Empfindlichkeit verschiedener Tiere gegenüber dem gleichen Ganglienblocker ist verschieden groß. Sie schwankt etwa in einem Bereich 1:3. Bei Prüfung neuer Substanzen ist es deshalb notwendig, am gleichen Tier auch die Wirksamkeit eines bekannten Ganglienblockers (etwa Hexamethonium) gleichzeitig zu testen. Die individuellen Unterschiede in der Empfindlichkeit sind wahrscheinlich zum Teil auch auf kleine Ungleichmäßigkeiten bei der Präparation des Ganglion zurückzuführen.

Zusammenfassung.

Der Musculus orbitalis (Müllerscher Augenmuskel) wird über das obere Halsganglion sympathisch innerviert. Seine Kontraktion bewirkt eine Protrusion des Augapfels. Diese Protrusion, die bei der Ratte sehr deutlich ausgeprägt ist, läßt sich leicht und exakt registrieren. Als Beispiel für die Anwendung des M. orbitalis und des Halsganglion als Testobjekte wird eine Versuchstechnik beschrieben, bei der neben der präganglionären Reizung die lokale Aufbringung von Lösungen der zu untersuchenden Substanzen auf das Ganglion möglich ist. Die Methode ist zur Vorprüfung von Substanzen auf eine etwaige ganglienblockierende Wirkung geeignet. Es besteht eine quantitative Abhängigkeit des Reizerfolges von der am Ganglion applizierten Konzentration der blockierenden Substanz

Literatur.

Brücke, F., W. Macho u. G. Werner: Wien. klin. Wschr. **1947**, 537. — Langley, J. N., and W. L. Dickinson: Proc. Roy. Soc. Lond. **46**, 423 (1889); **47**, 379 (1890). — Langley, J. N.: J. of Physiol. **27**, 226 (1901/02).

Dr. Hans Kaller, Göttingen, Bunsenstraße 10.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 479—485 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Über die Reaktion von Blutfarbstoff mit Porphyrexid.

Von

Ellen Baerwolff, W. Heubner und W. Koransky.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Januar 1955.)

Einleitung.

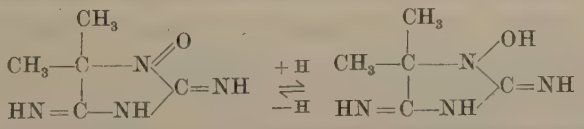
Die Bildung von Hämiglobin (= Methämoglobin) durch Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol erfolgt bekanntlich bei Gegenwart von Luftsauerstoff weit über das stöchiometrische Verhältnis hinaus. Dies beruht auf einem Wechselspiel verschiedener Oxydationsstufen, deren niedrigste das Phenylhydroxylamin ist. Nach Meinung von Kiese verläuft die Oxydation des Blutfarbstoffs in zweistufiger Reaktion im jeweiligen Wechsel zwischen Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin. Heubner vertritt die Ansicht, daß die einstufige Oxydation des Phenylhydroxylamins zu dem Radikal C_6H_5NHO genügt, um einen Kreisprozeß in Gang zu halten.

Zur Stützung dieser Vorstellung von der möglichen intermediären Bildung eines Radikals bei diesen Redoxreaktionen hatte Heubner seinerzeit orientierende Versuche mit zwei beständigen Radikalen mit 4-wertigem Stickstoff, Porphyrexid und Porphyrindin unternommen. Diese Radikale waren schon 1903 von Piloty und v. Schwerin dargestellt und später von R. Kuhn und W. Franke näher untersucht und zur Bestimmung von SH-Gruppen in Proteinen benutzt worden. Es hatte sich zunächst der Anschein ergeben, daß diese Radikale in kürzester Zeit und etwa im stöchiometrischen Verhältnis Hämiglobin bildeten.

Es blieb jedoch übrig, sorgfältig zu prüfen, ob diese Annahme unter allen möglichen Umständen und in allen Konzentrationsbereichen Gültigkeit besitzt. Aus diesem Grunde wurden erneut Versuche mit dem zur Verfügung stehenden Radikal Porphyrexid unternommen,

Eigenschaften des Porphyrexids.

Das rot gefärbte beständige Porphyrexid mit einem 4-wertigen Stickstoffatom hat die Summenformel $C_5H_6N_4O$ (Mol. Gew. 141). Durch Aufnahme von 1 Atom Wasserstoff geht es in einer 1-stufigen Redox-Reaktion in die an der Luft ebenfalls beständige Leukobase über, in welcher der Stickstoff dann 3-wertig ist.



Das Porphyrexid ist ein relativ starkes Oxydationsmittel mit einem Redoxpotential von etwa +700 mVolt. Es ist daher zu erwarten, daß ähnlich wie $K_3(Fe(CN_6))$ auch 1 Mol Porphyrexid 1 Val Hämoglobin zu Hämiglobin oxydiert.

Die Darstellung der Substanz erfolgte nach dem von Piloty und v. Schwerin angegebenen und von Kuhn und Franke verbesserten Verfahren[1]. Der Schmelzpunkt nach Kofler stimmte mit dem von Piloty angegebenen Wert von F = 157° C überein. Zur Kontrolle der Beständigkeit wurde bei den für die Versuche in Frage kommenden p_H-Werten das Spektrum im sichtbaren und langwelligen UV am Beckmann-Spektralphotometer aufgenommen. Die Wiederholung der Messungen mit den gleichen Lösungen ließ innerhalb von 2 Std nach der Lösung in Wasser keine Änderung der Extinktion erkennen.

Außerdem bestimmten wir die Oxydationsäquivalente des Porphyrexids durch jodometrische Titration bei dem in den meisten Versuchen eingehaltenen p_H 6,8. Dazu wurde die Substanz wie bei allen Versuchen lufttrocken eingewogen und in Wasser zu m/50 gelöst.

Ansatz: 0,5 cm³ m/50 Porphyrexid + 4,5 cm³ H_2O + 1,0 cm³ m/5 Phosphatpuffer p_H 6,8 + 2,0 cm³ 10%ige KJ-Lösung + 1,0 cm³ 0,2%ige Stärkelösung. Verbrauch: 0,815 cm³ m/100 $Na_2S_2O_3$ (Mittel aus 4 Bestimmungen). Die Bestimmung unter sonst gleichen Bedingungen, jedoch in Glykokoll-Salzsäure-Puffer bei p_H 2,5 führte zu demselben Wert. Das hier benutzte Präparat besitzt daher nur 82% der theoretischen Oxydationsäquivalente. Durch Trocknung im Vakuum erhöhte sich dieser Wert auf 85%.

Methodik.

Bei allen Versuchen kam Pferdehämoglobin zur Verwendung. Die mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschenen Erythrocyten wurden mit Wasser hämolysiert

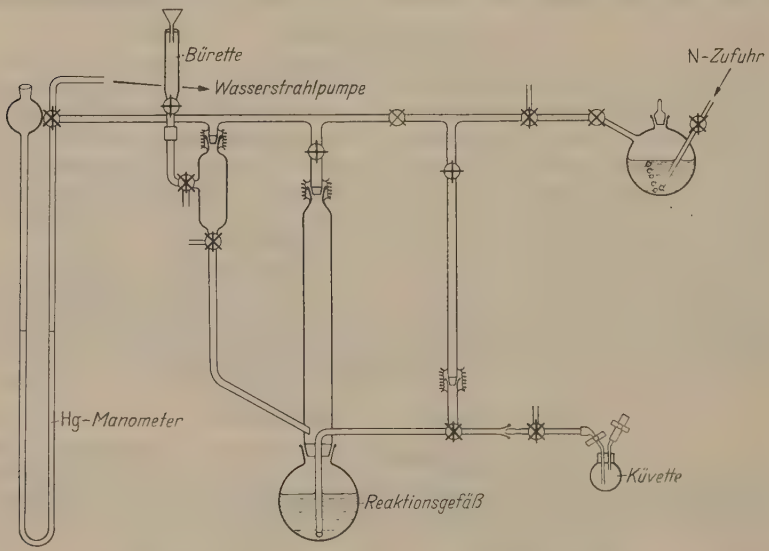


Abb. 1. Apparat zur Ausführung von Reaktionen mit reduziertem Hämoglobin und Photometrie.

und die Hämoglobin-Endkonzentration des Hämolysates in den einzelnen Versuchen auf durchschnittlich $5 \cdot 10^{-5}$ Val (Gramm äquivalent) je l eingestellt. Die

[1] Für die Herstellung im Organisch-Chemischen Institut der Freien Universität sind wir dem Direktor, Herrn Prof. Dr. Lautsch, und Herrn Dr. Nahme zu besonderem Dank verpflichtet.

Ansätze enthielten stets 10% m/5 Phosphatpuffer nach Sörensen. Das Porphyrexid wurde in wenig Wasser gelöst zum Zeitpunkt 0 dem Reaktionsgemisch zugesetzt. Die Hämiglobin-Bestimmung erfolgte spektralphotometrisch nach Havemann, Jung und v. Issekutz durch Messung der Aufhellung im roten Spektralbereich bei Zusatz von Cyanid, die Bestimmung des Gesamt-Hämoglobins in gleicher Weise nach vorheriger vollständiger Umwandlung in Hämiglobin mit Hilfe von kristallisiertem Kaliumferricyanid. In dem benutzten Meßbereich des Photometers verläuft die Zunahme der Teilstrichzahl mit der Konzentration praktisch linear. Die Temperatur während der Versuche betrug $20° \pm 2°$ C. Das kristallisierte Hämoglobin erhielten wir nach Vorschrift von Drabkin durch Dialyse des mit Toluol bereiteten Hämolysates gegen gesättigte Ammonsulfat-Lösung und dreimaliges Umlösen der abgeschiedenen Kristalle auf die gleiche Weise. Bei diesem Verfahren bildet sich jedoch durch Spontanoxydation bis zu 50% Hämiglobin. Gereinigtes Hämoglobin stellten wir durch Behandlung des Hämolysates mit Tonerde-Gel nach den bei Betge zitierten Methoden verschiedener Autoren dar.

Die Versuche unter Ausschluß von Sauerstoff führten wir in einer Apparatur durch (Abb. 1), welche ermöglichte, das Hämolysat sowie die Oxydationslösung getrennt bei einem Druck von etwa 15—20 mm Hg mit Reinstickstoff zu durchströmen, bis im Spektroskop die O_2-Doppelbande des Hämoglobins nicht mehr nachweisbar war.

Ergebnisse.

Die ersten Versuche wurden mit Hämolysat in Gegenwart von Luftsauerstoff durchgeführt. Wir ließen auf Hämoglobin in einer Konzentration von $5{,}7 \cdot 10^{-5}$ Val/l abgestufte Mengen von Porphyrexid einwirken. In einer schnell ablaufenden Reaktion bildeten sich jeweils verschiedene Mengen an Hämiglobin in Abhängigkeit vom eingesetzten Quantum an Oxydationsmittel (Abb. 2). Unter den gegebenen Bedingungen war es nicht möglich, den Verlauf der Reaktion in der Zeit zu verfolgen, weil die Umsetzung bei der ersten Messung etwa 3 min nach Beginn bereits abgelaufen war. Nach dieser Zeit war bei Einwirkung niedriger Konzentrationen des Oxydationsmittels noch eine langsame Zunahme des Hämiglobins zu beobachten. Diese entsprach sowohl in ihrer Geschwindigkeit als auch in der Größenordnung der bei Sauerstoffgegenwart bekanntlich stets ablaufenden Spontanoxydation. Zu diesem Zeitpunkt ließ sich jedoch kein reaktionsfähiges Oxydationsmittel mehr im Reaktionsgemisch nachweisen (vgl. S. 483/4). Daraus ergibt sich die Berechtigung, die innerhalb von 10 min nach Reaktionsbeginn erfolgte Bildung von Hämiglobin auf die Einwirkung des Porphyrexids zurückzuführen unter Vernachlässigung der in dieser Zeit abgelaufenen Spontanoxydation.

Aus den Versuchen ist zu erkennen, daß eine stöchiometrisch-quantitative Oxydation des Hämiglobins unter diesen Bedingungen nicht eintritt. Bei äquivalarem Verhältnis der Reaktionspartner werden etwa 50% des vorhandenen Ferro-Eisens oxydiert. Mehr als die Hälfte der Oxydationsäquivalente des Porphyrexids reagieren also nicht mit dem Hämoglobin-Eisen. Erst etwa 4 Val Porphyrexid auf 1 Val Blutfarbstoff

bewirkten eine völlige Oxydation des Eisens. Dieselben Reaktionen wurden noch unter Variation des p_H-Wertes durchgeführt. Der Ablauf und das Ergebnis waren innerhalb der Fehlergrenzen bei p_H 7,5, 8,1, 8,5 und 8,9 die gleichen wie bei p_H 6,8.

Da in den Hämolysaten aus Blutkörperchen neben Hämoglobin andere oxydierbare Substanzen enthalten sind, wurden die Versuche an Lösungen kristallisierten, sowie „gereinigten" Oxy-Hämoglobins wiederholt. Dabei war allerdings zu berücksichtigen, daß die zum Versuch kommenden Lösungen, besonders des kristallisierten Hämoglobins, bereits einen beträchtlichen Anteil an Hämiglobin enthielten. Das Ergebnis

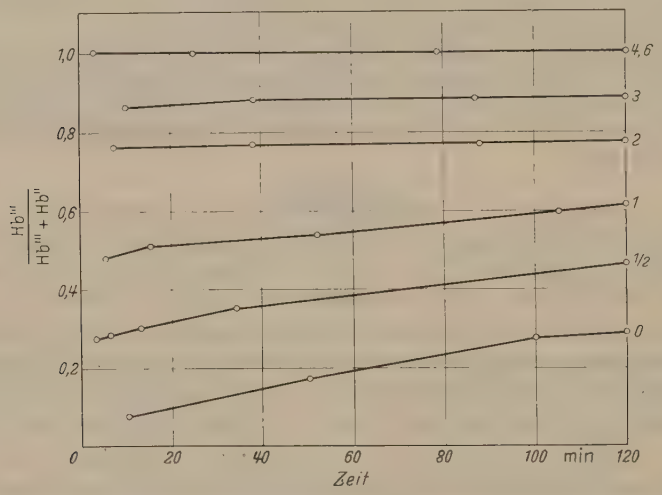


Abb. 2. Sauerstoff-Hämoglobin. Hb^{III}-Bildung durch ½, 1, 2, 3, 4, 6 Val Porphyrexid auf 1 Val Hb^{II}. 0 = Spontanoxydation.

wurde durch den Wegfall der Verunreinigungen nicht beeinflußt und entsprach dem der Versuche mit ungereinigtem Hämolysat.

Wurden die Versuche unter völligem Ausschluß von Sauerstoff, also mit reinem Hämoglobin, angestellt, dann trat durch die gleichen Porphyrexidkonzentrationen eine stärkere Hämiglobinbildung ein als unter Sauerstoff, doch waren die Unterschiede nicht sehr ausgeprägt.

Die Anwesenheit von Kohlenoxyd bei der Reaktion hatte die entgegengesetzte Wirkung wie der Ausschluß von Sauerstoff. Die Hämiglobinbildung durch die entsprechenden Porphyrexidmengen war bedeutend kleiner und in dem Konzentrationsbereich praktisch zu vernachlässigen, in welchem die Porphyrexidkonzentration das äquivalare Verhältnis nicht überstieg (Abb. 3).

Außerdem fiel, insbesondere bei den höheren Porphyrexid-Konzentrationen auf, daß die Oxydation des Hämoglobin-Eisen bei der Bindung von Kohlenoxyd

langsamer verlief und nach 10 min noch nicht zum Stillstand gekommen war. Wir verglichen daher die 2 Std-Werte miteinander. Eine Deutung der Erscheinung ist uns allerdings bis jetzt nicht möglich, weil wir, wie schon erwähnt, auch hier nach 10 min kein reaktionsfähiges Oxydationsmittel mehr nachweisen konnten.

Offenbar kommt die Oxydation des Hämoglobin-Eisens nicht bei einem Gleichgewicht zum Stillstand, Dies wurde noch dadurch erhärtet, daß Zusatz der Leukoverbindung zu reinem, mit Nitrit hergestelltem Hämiglobin weder eine Reduktion des Hämiglobins noch das Auftreten von Farbstoff herbeiführte. Aus diesen Feststellungen ergab sich die Aufgabe zu prüfen, ob nicht mit der Hauptreaktion konkurrierende Nebenreaktionen ablaufen, in denen das Oxydationsmittel verbraucht wird:

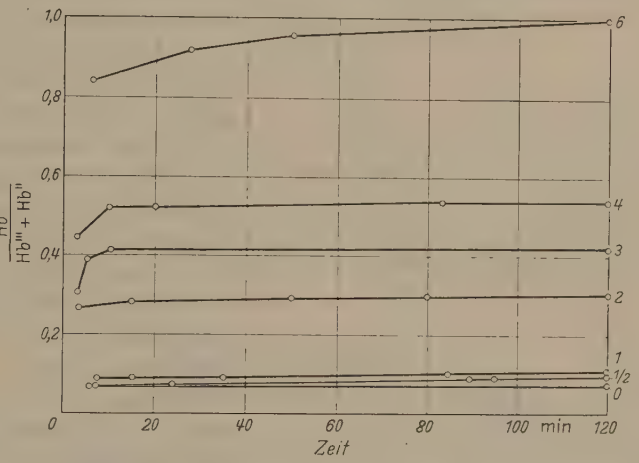


Abb. 3. Kohlenoxyd-Hämoglobin. Hb^{III}-Bildung durch ½, 1, 2, 3, 4, 6 Val Porphyrexid auf 1 Val Hb^{II}. 0 = Spontanoxydation.

Etwa 3 Val Porphyrexid wurden unter Einhaltung der bisherigen Konzentrationsverhältnisse und Reaktionsbedingungen einer Oxy-Hämoglobinlösung je Val zugesetzt und das Reaktionsgemisch nach Ablauf von 10 min unter Anwendung von 60 Atü durch eine Collodium-Membran filtriert. So erhielten wir ein farbloses, eiweißfreies Ultrafiltrat, das durch seine Farblosigkeit die Abwesenheit von Porphyrexid bewies. (Jedoch bestand die Möglichkeit, daß der Farbstoff bei der Filtration durch Adsorption festgehalten wurde.) Im Filtrat prüften wir auf die Gegenwart der Leukoverbindung.

Wir versetzten einen aliquoten Teil mit wenig konzentrierter NaOH und darauf mit n/10 $K_3(Fe(CN)_6)$ in einer Menge von etwa 4 Val auf 1 Val zu erwartenden Porphyrexids. Nach 10 min wurde zweimal mit dem gleichen Volumen Isobutanol ausgeschüttelt, die Isobutanolphase mit geglühtem Na_2SO_4 getrocknet, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und im Beckmann-Spektralphotometer bei der uns günstig erscheinenden Wellenlänge von 420 mμ gemessen. Die Umsetzung der Leukoverbindung mit Kaliumferricyanid, sowie die Extraktion mit Isobutanol

verlaufen nicht ganz quantitativ. Außerdem werden beim Ausschütteln des Hämolysates Stoffe extrahiert, die bei 420μ m absorbieren. Wir verglichen daher die Extinktion mit derjenigen von Proben, welche gleich behandelt wurden, jedoch kein Hämoglobin enthielten, oder in welchen das Porphyrexid vor dem Hämoglobin-Zusatz mit H_2S reduziert wurde.

Die erhaltenen Extinktionswerte wichen nur wenig voneinander ab. Hieraus läßt sich schließen, daß das Porphyrexid, welches sich nicht bei der Hämiglobinbildung umsetzt, tatsächlich in Nebenreaktionen reduziert wird.

Zur Feststellung des Ausmaßes dieser Nebenreaktionen versetzten wir eine Hämoglobinlösung mit steigenden Mengen Porphyrexid und extrahierten nach verschiedenen Zeiten das Reaktionsgemisch mit Isobutanol. Bei Zugaben von 1—10 Val Porphyrexid auf 1 Val Hämoglobin ließ sich sofort nach Reaktionsbeginn kein Farbstoff mehr ausschütteln. Erst bei 25 Val Porphyrexid fanden wir unveränderten Farbstoff wieder, dessen Konzentration im Reaktionsgemisch mit der Zeit aber stetig abnahm. An der Verfärbung der Hämoglobinlösung nach braun-grün und dem Auftreten von Trübung war eine Denaturierung des Hämoglobins zu erkennen.

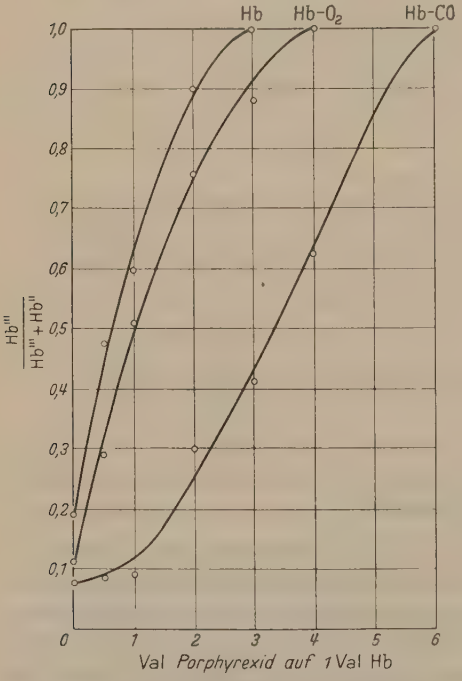


Abb. 4. Maximale Hb^{III}-Bildung in Abhängigkeit von der Porphyrexid-Konzentration.

Diskussion.

Die erhobenen Befunde sprechen zunächst dafür, daß der radikalartige Farbstoff Porphyrexid sich in der Tat mit Hämoglobin-Eisen umsetzt und demnach Hämiglobin bildet. Sie stützen die Vorstellung, daß ein intermediär entstehendes Radikal von der Art des Mono-dehydrophenylhydroxylamins prompt unter Oxydation des Eisens mit Hämoglobin reagieren kann.

Der Umsatz des Hämoglobin-Eisens entspricht jedoch nicht stöchiometrisch den eingesetzten Oxydationsäquivalenten des Porphyrexids. Offensichtlich kommt die Reaktion nicht wie mit Kaliumferricyanid zu einem Gleichgewichtszustand, vielmehr greift das relativ starke

Oxydationsmittel gleichzeitig noch oxydable Gruppen im Eiweißanteil des Hämoglobinmoleküls an. Diese Gruppen und das Eisen konkurrieren dann miteinander um das Oxydationsmittel. Je schneller das Eisen oxydiert wird, d. h. je mehr freies Eisen dem Oxydationsmittel gegenüber zur Verfügung steht, um so weniger Nebenreaktionen am Eiweiß werden sich zeigen. Daher vergrößert die Ausschaltung des Sauerstoffs bei der Reaktion die Bildung von Hämiglobin, während die Bindung von Kohlenoxyd sie stark vermindert (Abb. 4). Auch hier scheint das von Conant 1923 aufgezeigte Prinzip Gültigkeit zu haben, daß Oxydationsmittel nur mit dem freien, nicht durch Nebenvalenzen mit Gasen verbundenen Eisen des Blutfarbstoffs reagieren, so daß die Dissoziationskonstante dieser Komplexverbindungen die Geschwindigkeit der Reaktion des Oxydationsmittels mit dem Eisen bestimmt.

Über die Angriffspunkte des Porphyrexids neben dem Eisen kann wenig gesagt werden. Eine Veränderung des Porphyrinringes ist bei Porphyrexidkonzentrationen bis zu 6 Val spektroskopisch nicht zu erkennen. Sicher werden zunächst die im Molekül vorhandenen SH-Gruppen oxydiert. Wenn man nach Tristram 1,5 Mole Cystein auf 1 Mol Eisen rechnet, so muß für die beobachtete schnelle Reaktion noch eine Anzahl anderer Angriffspunkte vorhanden sein, bevor bei höherer Porphyrexidkonzentration in langsamer Reaktion das ganze Hämoglobinmolekül zerstört wird.

Zusammenfassung.

Die Einwirkung von Porphyrexid auf Hämoglobin führt zur Bildung von Hämiglobin in nicht stöchiometrisch verlaufender Reaktion.

Die Abwesenheit von Sauerstoff fördert die Hämiglobinbildung, während die Gegenwart von Kohlenoxyd sie hemmt.

Die Reaktion kommt nicht zu einem Gleichgewicht; überschüssiges Oxydationsmittel wird in gleichzeitigen, schnell ablaufenden Nebenreaktionen am Hämoglobinmolekül verbraucht.

Literatur.

Betke, K.: Der menschliche rote Blutfarbstoff. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954. — Conant, I. B.: J. of Biol. Chem. **57**, 401 (1923). — Drabkin, D. L.: J. of Biol. Chem. **164**, 703 (1946); **185**, 231 (1950). — Heubner, W.: Erg. Physiol. **43**, 9 (1940). — Klin. Wschr. **1942**, 961. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 311 (1948). — Kiese, M., u. M. Soetbeer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 305 (1950). — Kiese, M., D. Reinwein u. H. D. Waller: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 393 (1950). — Kuhn, R., u. W. Franke: Ber. **68**, 1528 (1935). — Kuhn, R., u. P. Desnuelle: Z. physiol. Chem. **251**, 14 (1938). — Piloty, O., u. B. v. Schwerin: Ber. **34**, 1870 (1901). — Tristram, G. R.: The amino-acid composition of the haemoglobins of the blood and muscle of the horse. Haemoglobin Symposium in memory of Sir Joseph Barcroft. Editors: F. J. W. Roughton and J. C. Kendrew. S. 109. London: Butterworths Sci. Publ. 1949.

Prof. Dr. W. Heubner, Heidelberg, Ladenburger Straße 69.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 486—490 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky).

Über das Verhalten der Cholinesterase und des Gewichtes denervierter Rattenzwerchfelle.

Von
Heinz Lüllmann und Erich Muscholl.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 10. Februar 1955.)

Nach Denervation des Rattenzwerchfelles tritt eine vorübergehende Hypertrophie des Muskels auf (Sola u. Martin). Dieser Befund war Ausgangspunkt unserer kürzlich veröffentlichten Versuche über die Entwicklung der Empfindlichkeit gegen Acetylcholin (Ach), Dekamethonium (C 10) und d-Tubocurarin (dTc) nach Denervierung (Muscholl u. Lüllmann). Die Experimente, über die jetzt berichtet werden soll, dienen der Frage, ob zwischen der Gewichtskurve und dem Verhalten der Cholinesteraseaktivität nach Entnervung ein Zusammenhang besteht. Da sich die echte und die Pseudocholinesterase unterschiedlich verhalten können, wie dies Sawyers am distalen Teil des durchschnittenen peripheren Nerven zeigte, prüften wir in einem Teil der Fälle das Verhalten beider Esterasen.

Methodik.

Verwandt wurden Albinoratten im Gewicht von 150—280 g. Die Denervierung einer Zwerchfellhälfte erfolgte in der früher beschriebenen Weise (Lüllmann u. Muscholl). Wir töteten die Tiere durch Genickschlag, entnahmen die Zwerchfelle schnell und legten sie in folgende Lösung: NaCl 0,72%, KCl 0,018%, $CaCl_2$ 0,028% und $NaHCO_3$ 0,2%. Die Diaphragmen wurden bei Zimmertemperatur sorgfältig von anhängendem Gewebe befreit und die Partes costales präpariert und weiterverarbeitet.

Wir maßen die Cholinesteraseaktivität der Zwerchfelle im Trockenpulver, das auf folgendem Wege hergestellt wurde: Die Partes costales wurden auf Kohlensäureschnee tiefgekühlt und dann in einen Lyophilisator („Precision Scientific Company") übertragen, in dem sie 18 Std verblieben. Nach dieser Gefriertrocknung stellten wir das Trockengewicht fest und pulverisierten die Muskulatur mittels einer Mokkamühle.

Die Cholinesteraseaktivität wurde manometrisch (Warburg-Apparatur) gemessen. Jedes Gefäß enthielt in 2,5 ml Bicarbonatpuffer (Zusammensetzung siehe oben) 30 mg „lyophilisierter" Zwerchfellmuskulatur. Die Aufschwemmung des Muskelpulvers im Puffer erwies sich als eine gut pipettierbare Suspension. Die Birnen enthielten 0,25 ml 1/10 m Acetylcholinchlorid-[1] bzw. Benzoylcholinchloridlösung[1], so daß eine 1/100 m Substratkonzentration resultierte.

[1] Wir danken der Firma Hoffman La Roche für die Substanzen.

Um den Einfluß der Denervierung auf das Gewicht und den Cholinesterasegehalt zu erfassen, wurde jeweils die denervierte Zwerchfellseite mit der „normalen" Gegenseite verglichen. Für jeden Denervationstermin untersuchten wir die Zwerchfelle von 3—6 Ratten gleichzeitig. Die in der Tab. 1 angegebenen Werte sind also Durchschnittswerte.

Versuchsergebnisse.

Eine Zusammenstellung aller Versuchsdaten findet sich in der Tab. 1. Das Gewicht der denervierten Hemidiaphragmen steigt zunächst, verglichen mit dem der kontralateralen Muskeln, an, erreicht am 5. Tag nach Denervierung das Maximum mit einer Zunahme von 38% und etwa am 20. Tag wieder das Ausgangsgewicht, um dann in das atrophische Stadium überzugehen. Reinnervierte Zwerchfellhälften (77. und 112. Tag nach Den.) weisen normales Gewicht auf.

Als Maß für die Cholinesteraseaktivität ist in der Tab. 1 der Spaltungswert nach 90 min und für 30 mg Trockengewicht in freigesetzter CO_2 angegeben (Spalte 5 u. 6.). Der Hydrolysewert der denervierten Zwerchfellseiten liegt niedriger als der der intakten Gegenseite, am 5. Tag nach Denervierung ist bereits etwa das Minimum mit einer Abnahme von 60% erzielt. Bezogen auf das Gewicht der Hemidiaphragmen erfolgt der Abfall der Ach-Spaltung etwas langsamer (Spalte 8), die Minimalwerte sind ab 10. Tag nach Denervierung erreicht. Die reinnervierten Zwerchfellhälften zeigen normale Ach-Spaltung.

Die Benzoylcholinspaltung durch normale und denervierte Zwerchfellhälften weist zu keinem Denervationstermin einen Unterschied auf. Unter oben genannten Versuchsbedingungen beträgt die Benzoylcholinhydrolyse um 9% der Ach-Spaltung (Spalte 11), während das denervierte Zwerchfell eine relativ höhere Benzoylcholinspaltung aufweist (Spalte 12).

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Über den Einfluß der Denervation auf die Cholinesteraseaktivität des Skeletmuskels liegen verschiedene Untersuchungen vor (Martini u. Torda; Feng u. Ting; Marney u. Nachmansohn; Couteaux u. Nachmansohn; Stoerk u. Morpeth; Brooks u. Myers und Brooks u. Chipman). Diese Befunde ergeben kein einheitliches Bild, denn je nach Versuchsobjekt, Tierart oder Dauer der Denervation ergeben sich verschiedene Werte. Unsere Daten zeigen einen sehr schnellen Verlust an Cholinesteraseaktivität nach der Denervation an. Dies betrifft sowohl die Aktivität pro Gewichtseinheit Trockengewebe als auch den absoluten Gehalt in der Pars costalis diaphragmatis. Der Endwert, eine Abnahme um 60—70%, ist zwischen dem 5. und 10. Tag nach Denervierung erreicht (Abb. 1). Die Denervation, und damit die Hyper- und Atrophie des Diaphragma beeinflußten den Benzoylcholinspaltungswert nicht. Der

Tabelle 1.

Tage nach Den.	Trockengewicht der Zwerchfelle in mg			Acetylcholin-Spaltung in mm^3 CO_2/mg und 90 min		Acetylcholin-Spaltung %-Änderung		Benzoylcholin-Spaltung in mm^3 CO_2/mg und 90 min		$\frac{Bch}{Ach}$-Spaltung in %	
	unbehand.	den.	% Änderung	unbehand.	denerviert	pro Gew.-E.	pro Zwerchfellhälfte	unbehand.	denerviert	unbehand.	denerviert
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	34	40	+18	162±15,2	136± 5,4	—16	— 1	14±1,8	12±0,4	9	9
2	44	51	+16	204± 2,2	101± 5,6	-50^{+++}	-43^{+++}	15±1,0	12±1,4	7	12
3	48	60	+25	197± 8,2	109±10,6	-45^{++}	-31^{+}	21±1,9	20±1,5	11	18
5	55	76	+38	164±11,4	69± 3,1	-58^{+++}	-42^{+++}	—	—	—	—
10	43	55	+28	172±12,5	52± 6,2	-70^{+++}	-61^{+++}	21±2,2	15±1,8	12	29
14	61	64	+ 5	162± 6,4	53± 5,1	-67^{+++}	-65^{+++}	—	—	—	—
18	46	55	+20	216± 3,5	61± 4,7	-72^{+++}	-66^{+++}	16±2,2	18±1,0	7	30
21	66	49	—26	222±23,1	88± 5,4	-60^{+++}	-71^{+++}	—	—	—	—
42	62	30	—52	178± 7,6	121± 9,3	-32^{+}	-67^{+++}	—	—	—	—
77	54	55 reinn.	— 2	187±10,0	168± 7,2 reinnerviert	— 10	— 8	14±1,7	13±2,0 reinnerviert	8	8
112	57	57 reinn.	0	137± 6,9	157± 9,4 reinnerviert	+15	+15	—	—	—	—

Statistische Daten: In Spalte 5, 6, 9, 10 ist als Streuungsmaß der mittlere Fehler des Mittelwertes angegeben. In Spalte 7 und 8 bedeuten: $P < 0{,}001 = {}^{+++}$, $P < 0{,}01 = {}^{++}$, $P < 0{,}05 = {}^{+}$ (t Test).

Anteil der Pseudoesterase an der Gesamtspaltung liegt mit 9% in derselben Größenordnung, wie er von Brooks u. Myers für den M. serratus anterior des Meerschweinchens angegeben wird. Nach Entnervung des Zwerchfelles steigt der Anteil der Pseudoesterase auf das 3- bis 4fache an.

Bei steriler Operationstechnik kommt es trotz Exhärese eines mindestens 10 mm langen Stückes vom N. phrenicus zu einer Re-

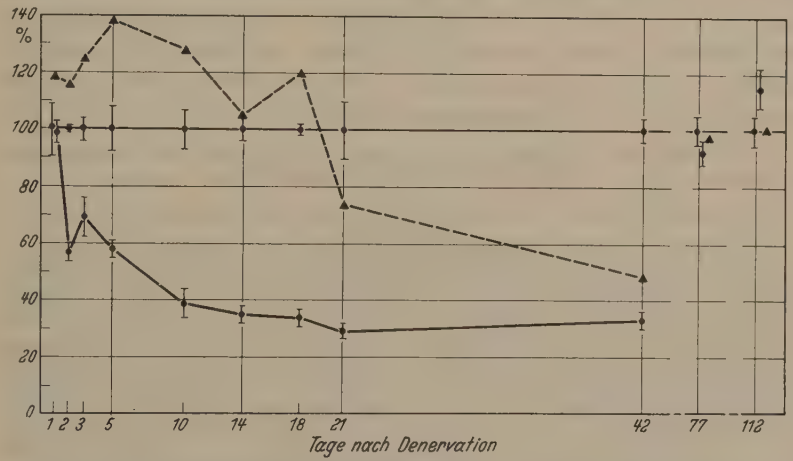


Abb. 1. Gewicht und Cholinesteraseaktivität denervierter und reinnervierter Zwerchfelle. Abszisse: Tage nach Denervation. Ordinate: Angabe in Prozenten. (▲ . . . . ▲) Gewicht der denervierten und reinnervierten Zwerchfellhälften in Prozent der unbehandelten Gegenseiten. (• - - - - •) Cholinesteraseaktivität der denervierten und reinnervierten Diaphragmen in Prozent der unbehandelten Gegenseiten, deren Werte = 100 gesetzt werden. Als Maß für die Streuung ist der mittlere Fehler des Mittelwertes eingezeichnet.

innervation des Zwerchfells nach 8—10 Wochen. Das reinnervierte Diaphragma verhält sich in bezug auf das Gewicht und die Esterspaltung normal.

Während bei der Skeletmuskulatur, die nach Denervierung sofort atrophiert, an einen inneren Zusammenhang zwischen Muskelgewicht und Cholinesterasegehalt gedacht werden kann, besteht diese Möglichkeit am Zwerchfell nicht. Die Zunahme der Ach-Empfindlichkeit (Übersicht: Cannon u. Rosenblueth) kann nicht auf die Abnahme der Cholinesteraseaktivität im denervierten Muskel zurückgeführt werden, da auch gleichzeitig die Empfindlichkeit gegenüber Dekamethonium ansteigt (Zaimis). Zwischen den am denervierten Zwerchfell gemessenen Größen: Zunahme der Ach- und Dekamethoniumempfindlichkeit (Muscholl u. Lüllmann), Gewicht und Cholinesteraseaktivität besteht nach unserer Ansicht höchstens ein korrelativer, nicht aber ein kausaler Zusammenhang.

Zusammenfassung.

Es wird das Verhalten des Gewichtes und der Cholinesteraseaktivität denervierter Rattenzwerchfelle untersucht. Der Zeitraum erstreckt sich vom 1. Tag nach Denervation bis zur Reinnervation. Während das Gewicht des denervierten Zwerchfelles zuerst einen Anstieg zeigt (+38% am 5. Tag nach Denervation), sinkt der Cholinesterasegehalt schnell ab (—60% am 5. Tag nach Denervation). Etwa am 20. Tag nach Denervation beginnt die Atrophie des Zwerchfelles, das nach 6 Wochen einen 50%-Gewichtsverlust aufweist. Die Cholinesteraseaktivität im Hemidiaphragma bleibt unverändert niedrig. Reinnervierte Zwerchfelle verhalten sich wie normale Kontrollen. Die Aktivität der Pseudocholinesterase wird von der Denervierung des Muskels nicht beeinflußt.

Wir danken Herrn O. Tilger für die ausgezeichnete technische Mitarbeit und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung der Arbeit.

Literatur.

Brooks, V. B., and L. M. Chipman: Cholinesterase-content of various skeletal muscles after denervation. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **40**, 164 (1952). — Brooks, V. B., and D. K. Myers: Cholinesterase-content of normal and denervated skeletal muscel in the guinea-pig. J. of Physiol. **116**, 158 (1952). — Cannon, W. B., and A. Rosenblueth: The supersensitivity of denervated structures. New York: McMillan Comp. 1949. — Couteaux, R., and D. Nachmansohn: Changes of cholinesterase at end-plates of voluntary muscle following section of sciatic nerve. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **43**, 177 (1940). — Feng, T. P., and Y. C. Ting: Chin. J. Physiol. **13**, 141 (1938). Zit. n. H. C. Stoerk u. E. Morpeth. — Lüllmann, H., u. E. Muscholl: Über die Wirkung hypotoner Salzlösungen auf das Rattenzwerchfell. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **221**, 209 (1954). — Marney, A., et D. Nachmansohn: Cholinestérase dans les muscle strié après dégénéresance du nerf moteur. C. r. Soc. Biol. (Paris) **126**, 785 (1937). — Choline esterase in voluntary muscle. J. of Physiol. **92**, 37 (1938). — Martini, E., u. K. Torda: Die Cholinesterase des denervierten Muskels. Klin. Wschr. **1937**, 824. — Muscholl, E., u. H. Lüllmann: Die Wirkung von Acetylcholin, Dekamethonium und d-Tubocurarin auf das denervierte Rattenzwerchfell in Abhängigkeit von der Denervationsdauer. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (Im Druck). — Sawyer, C. H.: Cholinesterase in degenerating and regenerating peripheral nerves. Amer. J. Physiol. **146**, 246 (1946). — Sola, O. M., and A. W. Martin: Denervation hypertrophy and atrophy of the hemidiaphragm of the rat. Amer. J. Physiol. **172**, 324 (1953). — Stoerk, H. C., and E. Morpeth: Cholinesterase activity of skeletal muscle in various conditions. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **57**, 154 (1944). — Zaimis, E. J.: Reaction of C 10 on normal and denervated mammalian muscle. J. of Physiol. **112**, 176 (1951).

Dr. H. Lüllmann, Mainz, Pharmakol. Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 491—495 (1955).

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik in Wien (Vorstand: Prof. Dr. E. Lauda) und der inneren Abteilung des Paracelsus-Institutes in Bad Hall, O.Ö. (Leiter: Prof. Dr. E. Lauda).

Studien über die Gewebswasserdurchflutung mit dem Ganglienblocker Pendiomid*.

Von

H. Scheid.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Februar 1955.)

Zum Verständnis der Kreislaufwirkung von Ganglienblockern (GB) erscheinen folgende Angaben von Bedeutung: Bein u. Mitarb. (1951, 1952) u. a. konnten beweisen, daß durch die Wirkung dieser Pharmaka die cholinergische Reizübertragung in den vegetativen Ganglien von den prä- zu den postganglionären Nervenelementen reversibel blockiert wird. Die eindruckvollste Wirkung ist ein Blutdruckabfall. Dieser tritt jedoch nicht auf, wenn der Organismus unter der Wirkung von Stoffen steht, die an den peripheren Gebieten des Kreislaufes ihren Angriffspunkt haben, wie z. B. bei Blutdruckerhöhungen durch ein Phäochromocytom. Aus dem gleichen Grunde treten am Organismus, der unter der Wirkung von GB steht, Gaben von Adrenalin und ähnlich peripher angreifende Kreislaufmittel, viel stärker in Erscheinung.

Sehr eingehend wurden auch andere physikalisch meßbare Kreislaufgrößen studiert, die sich unter dem Einfluß der GB verändern, z. B. die Anspannungs- und Austreibungszeit nach der Methode von Blumberger, von Mechelke u. Nusser (1951). Weiter die Messung des Schlag- und Minutenvolumens sowie der Pulswellengeschwindigkeit nach der Methode von Broemser-Ranke von Kaiser, Reich u. Sarre (1951), außerdem von Bernsmeier, Esser u. Lorenz (1951), sowie von Mechelke u. Nusser (1951). Leider sind die von genannten Autoren aufgezeigten Befunde nicht immer gleichsinnig, so daß ein abschließendes Urteil nicht mit Sicherheit gefällt werden darf.

Das komplexe Geschehen der Blutdruckerniedrigung kann durch die angeführten Methoden allein nicht erfaßt werden. Vor allem müßte durch gegebene Untersuchungen auch eine Beurteilung des peripheren Kreislaufes dahingehend ermöglicht werden, ob sich auch in den kleinen und kleinsten Gefäßen die gleichen Veränderungen aufzeigen lassen. Dies erscheint unter den gegebenen Bedingungen um so mehr möglich,

* N, N, N′, N′-3-Pentamethyl-N,N′-diäthyl-3-aza-pentylen-1,5-diammoniumdibromid.

als das automone Nervensystem die Gefäße bis in die kleinsten Verzweigungen hinein begleitet.

Durch die folgenden Arbeiten ist ein Zusammenhang zwischen anatomischem Substrat und funktionellem Reaktionsgeschehen der Gefäße weitgehend wahrscheinlich gemacht worden. So fand Pau (1951), daß es unter der Wirkung von Pendiomid beim Menschen mit dem Abfall des arteriellen Druckes auch zu einem Druckabfall im Augeninneren kommt. Bernsmeier u. Simons (1953) konnten zeigen, daß sich unter Pendiomid nicht nur der arterielle Druck im großen Kreislauf, sondern auch der der Netzhautarterien senkt. Schließlich wurde durch die Untersuchungen von Sack u. Handrick (1952) dargelegt, daß es mit Abfall des arteriellen Druckes unter Pendiomid zu einer Senkung des erhöhten Liquordruckes kommt.

Loew u. Tönnis (1952) sahen bei Gehirnoperationen, daß sich unter der Wirkung des Pendiomid das Hirnvolumen verkleinert. Bei Kenntnis des Wirkungsmechanismuses dieses Pharmakons kann dazu folgende Erklärung herangezogen werden. Zunächst werden durch Unterbrechung der Ganglien die zirkulatorischen Reflexmechanismen weitgehend ausgeschaltet. Diesen Mechanismus benützt man bei Gehirnoperationen, die unter der Wirkung der sogenannten Hypotensionsnarkose durchgeführt werden, indem man den Kopfteil des Körpers derartig hebt, daß in diesem Gebiet der Blutdruck auf ein gewünschtes Minimum gesenkt wird. Soll der Blutdruck wieder ansteigen, so wird der Kopf tiefer gelagert, wodurch das Blut, ähnlich wie in einem System kommunizierender Gefäße dem tiefsten Punkt entgegenfließt. Dieses Phänomen hat jedoch gewisse Grenzen. Bernsmeier u. Simons (1953) zeigten, daß bei einer Blutdruckverminderung um 50% die gemessene Durchblutungsgröße nur um 20% abnimmt. Diese und andere Umstände ließen darauf schließen, daß die genannte Hirnverkleinerung auch noch auf einer Verminderung des Gewebswassers beruhen könnte.

Aus den angeführten Befunden läßt sich leicht verstehen, daß das Interesse für Gewebswasserverschiebungen bei der Beurteilung des Pendiomid immer mehr in den Vordergrund tritt. Nach den derzeitigen Vorstellungen der Gewebswasserdurchflutung besteht im arteriellen Schenkel einer Capillare ein höherer Blutdruck, als es dem entgegengesetzt wirkenden kolloidosmotischen Druck entspricht. Es resultiert daraus ein Druckgefälle in Richtung Gewebe und damit ein Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen. Durch ein gegengerichtetes Druckgefälle im venösen Schenkel, nämlich relativ hohen kolloid-osmotischen Druck gegen relativ niederen Blutdruck, kommt es zu einem Flüssigkeitsstrom aus dem Gewebe in die Blutbahn. Wird nun durch einen GB wie Pendiomid die Innervation der Gefäße kurzfristig unterbrochen, so wird der Blutdruck in diesem Gefäßabschnitt reduziert. Wenn es nun durch den GB zu gerichteten Druckänderungen in den Gefäßen kommt, müssen diesem neuen Druckgefälle andere bzw. neue Flüssigkeitsbewegungen entsprechen. Dies aufzuzeigen ist Gegenstand vorliegender Arbeit. Wenn sich unter der Einwirkung des Pendiomid das venöse Blut eigentümlich ändert, werden dadurch Veränderungen nachweisbar, die sich unmittelbar hinter dem Bereich der Gewebsdurchblutung abspielen.

Methode.

Es wurden folgende Untersuchungen an 13 kreislaufgesunden, kardial kompensierten, teils Normo- teils Hypertonikern durchgeführt.

Nach Einhalten einer längeren Ruhepause wurde am liegenden Pat. so oft der Blutdruck gemessen bzw. daraus der mittlere arterielle Blutdruck mP. errechnet, bis die normalen Ruheschwankungen von $\pm 1{,}3\%$ erreicht wurden. Nach Gaben von 100 mg Pendiomid i.m. folgten Druckmessungen nach Ablauf von 5, 15 und 25 min. Für die Blutuntersuchungen, die in den gleichen zeitlichen Abständen erfolgten, stand eine größere kalibrierte Kanüle zur Verfügung, die durch ihren Innenschliff eine Blutgerinnung verhinderte und dadurch ständig in der Armvene des Pat. belassen werden konnte. Dadurch war es möglich geworden, ohne Manipulationen an den Venen oder Änderungen des Venendruckes Blut zu entnehmen. Die Hämatokritbestimmung wurde in 10 cm langen Röhrchen, die mit durch „Liquoid Roche" ungerinnbar gemachtem Blut gefüllt waren, durchgeführt. Die Dichtebestimmung des Vollblutes und des Serums erfolgte gravimetrisch mittels der Preglschen Präzisionswägepipetten[1]. Genaue Angaben der geschilderten Methode finden sie in den Arbeiten von Scheid (1954 a, b, c).

Statistische Berechnung der Ergebnisse. Aus vorangegangenen Leerversuchen wurde die Streuung der einzelnen Bestimmungsgrößen in Ruhe ermittelt und in Prozenten ausgedrückt. Ihre Abweichung von den Ausgangswerten wurde statistisch errechnet.

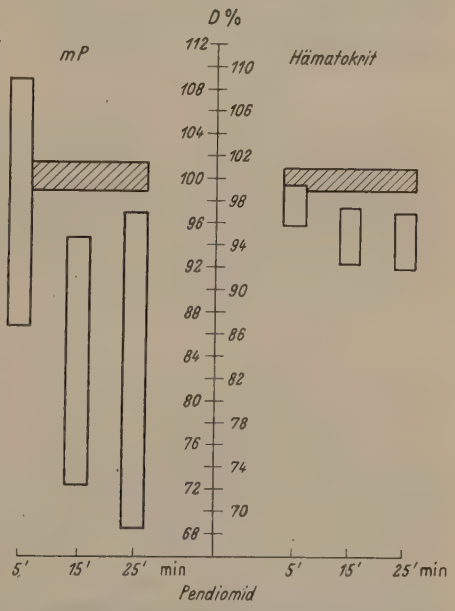


Abb. 1. Verhalten des mittleren arteriellen Blutdruckes mP. gemessen an der A. cubitalis und des Hämatokrites in den Zeitabständen von 5, 15, 25 min nach Gabe von 100 mg Pendiomid intramuskulär am liegenden Pat. Schraffierte Felder: Streuung der Ruhewerte; ausgezogene Felder: Streuung der Versuchsreihe; $D\%$ = Differenzprozente vom Ausgangswert (= 100).

Ergebnisse und Diskussion.

Wie aus Abb. 1 zu ersehen ist, ändert sich der mP. nach 5 min nicht. 15 und 25 min nach der Gabe von Pendiomid kommt es zu einem signifikanten Abfall. Die Hämatokritveränderungen zeigen die gleiche Tendenz. Auch sie sind erst in den Zeitabständen 15 bzw. 25 min als signifikant zu bezeichnen. Auffallend sind dabei die sehr geringen Streuungen der Versuchsreihe, in Relation zu den Ruhestreuungen. Durch diese Veränderungen wird zum Ausdruck gebracht, daß sich in der V. cubitalis ein Blut vorfindet, das zum Unterschied vom Ausgangswert mehr flüssige Bestandteile in der Raumeinheit aufweist. Zu diesem

[1] Sie werden von der Fa. Paul Haack, Wien IX., Garelligasse 4, hergestellt.

Vorgang kann es in mehrfacher Weise kommen: In einem Stromgebiet, das unseren Untersuchungen nicht zugänglich ist, könnte es zu einer derartigen Ansammlung von zelligen Blutelementen kommen, daß ein relativ zellärmeres Blut in der unseren Untersuchungen zugänglichen Strombahn resultieren würde. Diese Annahme würde dann ihre Berechtigung finden, wenn in diesem Blute die Dichte des Serums unverändert

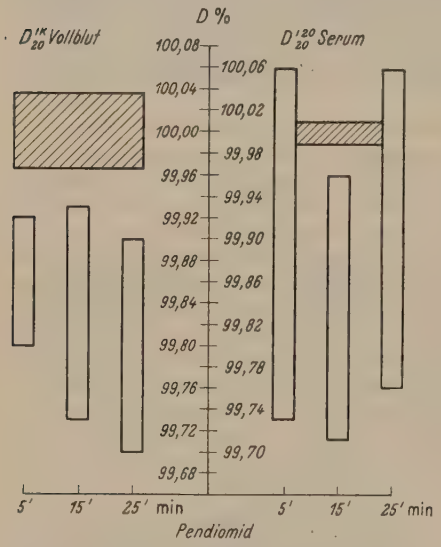


Abb. 2. Verhalten der Vollblutdichte bei annähernder Körpertemperatur und der Serumdichte bei 20° C gemessen, wobei die Raumtemperatur 20° C betrug. Berechnung der Werte und Bezeichnung der Streuung wie in Abb. 1.

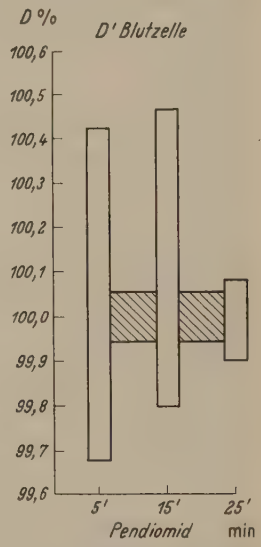


Abb. 3. Verhalten der Dichte der Blutzellen, Berechnung der Werte und Bezeichnung der Streuung wie in Abb. 1 und 2.

bliebe. Abb. 2 zeigt aber, daß die Serumdichte, wenn auch nur im Zeitabschnitt 15 min hoch signifikant, so doch auch in den anderen Zeitabschnitten mit einer ähnlichen Tendenz, geringer geworden ist. Dieser aufgezeigte Verdünnungsvorgang kann aber nur durch einen Gewebswassereinstrom in die Blutbahn erklärt werden. Es darf dabei als bekannt vorausgesetzt werden, daß das Gewebswasser dem Ultrafiltrat des Serums in chemisch-physikalischer Hinsicht nahe kommt.

Nun wäre noch zu klären, woher dieses Gewebswasser seinen Ursprung nimmt. Prinzipiell besteht die Möglichkeit, daß es aus den im Blutwasser suspendierten Blutzellen oder aus dem die Strombahn umgebenden Gewebe stammt. Der Hämatokritabfall kann einerseits schon allein durch Verminderung der Zahl der Blutzellen bedingt sein. Dieser Fall tritt dann ein, wenn dabei die Größe der Blutzellen und daher auch ihre Dichte gleichbleibt. Andererseits kann beim Hämatokritabfall die Zahl der Blutzellen unverändert bleiben, jedoch ihre Größe ab- bzw.

ihre Dichte zunehmen. Somit würde der Flüssigkeitsstrom seinen Ursprung in den zelligen Blutelementen finden. Aus Abb. 3 ist jedoch zu entnehmen, daß sich die Blutzellendichte während des ganzen Versuches nicht signifikant ändert und somit der Hämatokritabfall, der mit den Dichteveränderungen des Vollblutes weitgehend gleichläuft, durch einen Gewebswassereinstrom aus dem die Strombahn umgebenden Gewebe erklärt werden kann. Es kommt demnach unter der Einwirkung des Ganglienblockers Pendiomid gleichzeitig zu einem Druckabfall in den Gefäßen und einer „Entwässerung" des die Strombahn umgebenden Gewebes. Vielleicht ist es möglich, die eingangs erwähnten Beobachtungen der Chirurgen, z. B. die gleichzeitig mit dem Blutdruckabfall einsetzende Gehirnvolumsverminderung bei Niederdruckanaesthesie daraus zu erklären.

Zusammenfassung.

Die Wirkung des Ganglienblockers Pendiomid auf den Blutdruck und auf die Veränderungen des Hämatokritwertes sowie der Dichtewerte des Serums, Vollblutes und der Blutzellen wird an Hand einer Versuchsreihe dargelegt. Aus den statistisch erfaßten Resultaten läßt sich ein Blutdruckabfall mit einem gleichzeitig verlaufenden Gewebswassereinstrom in die Blutbahn aufzeigen.

Literatur.

Bein, H., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 446. — Bein, H., F. Gross, W. Schuler u. J. Tripod: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 1143. — Bernsmeier, A., u. K. Siemons: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 210. — Bernsmeier, A., H. Esser u. W. Lorenz: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 452. — Kaiser, F., E. Reich u. H. Sarre: Dtsch. med. Wschr. **1951**, 1443. — Loew, F., u. W. Tönnis: Zbl. Neur. **12**, 82 (1952). — Mechelke, K., u. E. Nusser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 1 (1951). — Pau, H.: Klin. Mbl. Augenheilk. **118**, 373 (1951). — Sack, H., u. G. Handrick: Die Medizinische **1952**, 1. — Scheid, H.: Mikrochemie u. Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 308 (a). — Z. exper. Medizin **124**, 201 (1954) (b); **125**, 49 (1955) (c).

Dr. H. Scheid, Wien (Österreich), I. Med. Univ.-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225. S. 496—504 (1955).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Göttingen (Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Das Serumeiweißbild bei experimenteller Hypo- und Hyperthyreose.

Von

Hans Kleinsorg, Hans-Ludwig Krüskemper u. Carmelo Lopez-Calleja*.

(Eingegangen am 16. Februar 1955.)

In früheren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß bei Ratten nach hohen Dosen von Radio-Jod typische Veränderungen im Serumeiweißbild auftreten (Kleinsorg, Krüskemper u. Lopez 1955). Die vorliegenden Versuche sollen zur Klärung der Frage dienen, inwieweit die nach Jod^{131}-Behandlung einsetzenden Serumeiweißverschiebungen als spezifisch für einen hypothyreotischen Stoffwechselzustand angesehen werden dürfen. Zu diesem Zweck wurden an Normaltieren mit Hilfe von zwei antithyreoidalen Substanzen — Methylthiouracil und Kaliumperchlorat (Stanbury u. Wyngaarden 1952, Krüskemper u. Kleinsorg 1954) — experimentell Hypothyreosen herbeigeführt und die Serumeiweißfraktionen bei Applikation einer unterschiedlichen Dosis und bei verschieden langer Versuchsdauer bestimmt.

Ferner wurde an hypophysektomierten Ratten der Einfluß von Kaliumperchlorat und von thyreotropem Hormon auf das Serumeiweißbild untersucht, um festzustellen, ob antithyreoidale Stoffe eine direkte Wirkung auf die Eiweißzusammensetzung des Serums besitzen und ob die Anregung bzw. Normalisierung der Schilddrüsenfunktion hypophysenloser Tiere durch thyreotropes Hormon von Serumeiweißveränderungen begleitet ist.

Schließlich wurde an Normaltieren durch Thyroxin eine hyperthyreotische Stoffwechsellage erzeugt und geprüft, ob hierbei auftretende Abweichungen der Serumeiweiße von der Norm durch gleichzeitige Behandlung mit Kaliumperchlorat verhindert werden können.

Methodik.

Als *Versuchstiere* dienten männliche weiße Inzuchtratten mit einem Gewicht von 100—130 g, die bei einer Standardkost (nach Bahner, Hersteller: Fa. Latz, Euskirchen) gehalten wurden. Die Normaltiere erhielten als Trinkflüssigkeit Wasser, die hypophysektomierten Tiere 5%-Glucoselösung ad libitum.

Das *Kaliumperchlorat* (Merck, p.a.) wurde mit täglich zweimaliger Schlundsondenfütterung einer wäßrigen Lösung in einer Gesamttagesdosis von 100 mg bzw.

---

* Stipendiat des Consejo Superior de Investigaciones Cientificos (Madrid).

250 mg/kg gegeben. In gleicher Weise geschah die Applikation von *Methylthiouracil* (Merck) (0,5% Suspension in Wasser; Dosis 100 mg/kg/Tag).

Das *Thyroxin* (Roche) wurde täglich einmal subcutan injiziert (0,3 mg/100 g), ebenso das *thyreotope Hormon* (Pretiron, Schering) (TSH) in einer Dosis von 15 bzw. 30 MSE/Tier/Tag.

Der *Gesamteiweißgehalt* des Serums wurde refraktometrisch ermittelt. Die Serumeiweißfraktionen wurden mit dem Mikroelektrophoresegerät von Antweiler (1949) getrennt. Serumkonzentration etwa 2,0 g-%, Verdünnung mit Longsworth-Puffer (p_H 8,6), Spannung 110 V, Stromstärke 3,5 mA, optimale Trennungszeit 18 min. Die Auswertung geschah nach dem Vorgehen von Hartmann u. Schumacher (1950).

Die statistische Prüfung der Ergebnisse wurde nach Pätau (1943) durchgeführt. Angegeben wird jeweils die Wahrscheinlichkeit p für die Homogenität der verglichenen Mittelwerte ($p = > 0{,}05$: nicht signifikant; $p = 0{,}05$—$0{,}01$*: schwach signifikant; $p = 0{,}01$—$0{,}001$**: signifikant; $p = < 0{,}001$***: hochsignifikant).

Die folgende Aufstellung gibt eine Übersicht über die Vorbehandlung der einzelnen Tiergruppen, die Gruppennumerierung kommt in Text und Tabellen zur Anwendung:

1. Unbehandelte normale Kontrolltiere; 2. $KClO_4$ 250 mg/kg, 14 Tage; 3. $KClO_4$ 100 mg/kg, 21 Tage; 4. $KClO_4$ 100 mg/kg, 28 Tage; 5. Methylthiouracil (MTU) 100 mg/kg, 14 Tage; 6. Thyroxin 0,3 mg/100 g, 11 Tage; 7. Thyroxin 0,3 mg/100 g, $KClO_4$ 100 mg/kg, 11 Tage; 8. Hypophysektomierte Tiere, unbehandelt; 9. Hypophysektomierte Tiere, Pretiron 15 MSE/Tier (7 Tage), dann 30 MSE/Tier (3 Tage); 10. Hypophysektomierte Tiere, Pretiron (s. Gruppe 9), $KClO_4$ 250 mg/kg, 10 Tage; 11. Hypophysektomierte Tiere, $KClO_4$ 250 mg/kg, 10 Tage.

Ergebnisse.

A. Normaltiere.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen an Normaltieren sind in den Tab. 1 u. 4 zusammengestellt. Ein Vergleich der Mittelwerte der Serumeiweißfraktionen unbehandelter Ratten mit den von Dole (1944) und von Lever u. Mitarb. (1951) für den Menschen angegebenen Werte (in g-%) zeigt, daß keine deutlichen Unterschiede zwischen Menschen- und Rattenserum hinsichtlich der quantitativen Zusammensetzung bestehen. Während bei der Elektrophorese menschlichen Serums im wesentlichen 5 Globulin-Unterfraktionen (α_1-, α_2-, β_1-, β_2- u. γ-Globulin) differenziert werden, konnten im Rattenserum 7 Globulinfraktionen getrennt werden, von denen 2 den α-, 3 den β-, und 2 den γ-Globulinen zuzuordnen sind. Von einer Einzelauswertung der Unterfraktionen wurde Abstand genommen, da über deren Zusammensetzung und physiologische Bedeutung nichts bekannt ist.

Die Herabsetzung der Schilddrüsenfunktion durch Kaliumperchlorat und durch Methylthiouracil führte zu einer von Dosis und Dauer der Behandlung abhängigen Zunahme des *Gesamteiweißgehaltes* im Serum.

Während Kaliumperchlorat (100 mg/kg/Tag, Gruppe 4) erst nach 4 Wochen zu einem Anstieg von 6,6% (0,46 g-%) Anlaß gab, war das Methylthiouracil in gleicher Dosierung wesentlich wirksamer; hier wurde bereits nach 14 Tagen eine Zunahme von 14,3% (0,99 g-%) beobachtet. (Diesem Verhalten des Gesamteiweißes entsprach die Gewebsatmung der Leber, die nach 14tägiger Methylthiouracilgabe 23% und nach 28tägiger $KClO_4$-Applikation 19% unter dem Ausgangswert lag [vgl. Krüskemper u. Kleinsorg 1954].)

Die elektrophoretische Analyse ergab, daß an der Zunahme des Gesamteiweißes nicht alle Eiweißfraktionen in gleichem Ausmaß beteiligt waren. Der *Albumingehalt* des Serums blieb bei den Versuchsgruppen 2 bis 5 ($KClO_4$ bzw. Methylthiouracil) ohne signifikante Abweichung vom Normalwert. Dagegen nahmen die *Globuline* deutlich (jeweils um etwa 35%) zu und zwar bei Behandlung mit Kaliumperchlorat (100 mg/kg) erst nach 28 Tagen, bei Methylthiouracil bereits nach 14 Tagen.

Dieser Anstieg der Serumglobuline war ausschließlich durch Vermehrung der *β-Globuline* bedingt; α- und γ-Globuline ließen während der Kaliumperchlorat- bzw. Methylthiouracil-Verabfolgung keine sicheren quantitativen Abweichungen von der Norm erkennen. Der β-Globulinspiegel war wie der Gesamteiweißgehalt von Dauer und Dosis der Medikation abhängig: nach 14 Tagen $KClO_4$ (100 mg/kg/Tag, Gruppe 3) + 46%; nach 28 Tagen (Gruppe 4) + 94%; nach 14 Tagen 250 mg $KClO_4$/kg (Gruppe 2) + 80% und nach Methylthiouracil (Gruppe 5) + 80%. Auch hier zeigte sich eine stärkere bzw. früher einsetzende Wirkung des Methylthiouracil, insofern als bei gleicher Dosierung der β-Globulinwert nach 14tägiger Methylthiouracilbehandlung erst nach 28tägiger Gabe von Kaliumperchlorat erreicht wurde. Den beschriebenen Veränderungen (in erster Linie der erheblichen β-Globulinsteigerung) entsprach ein starkes Absinken des Albumin-Globulin-Quotienten nach Kaliumperchlorat- bzw. Methylthiouracilbehandlung.

Nach parenteraler *Thyroxinzufuhr* (0,3 mg/Tier/Tag, 11 Tage; Gruppe 6) fiel der Gesamteiweißgehalt im Serum um fast 20% (—1,31 g-%). Hierbei waren fast ausschließlich die Albumine betroffen, deren Wert um 0,95 g-% sank. Der Globulinspiegel wurde zwar auch gesenkt (um 0,38 g-%), jedoch war die Differenz gegenüber der Norm nicht zu sichern. Im einzelnen beteiligten sich alle Globulinfraktionen in etwa gleichem Ausmaß an dieser mäßig ausgeprägten Verminderung (vgl. Tab. 1). Gleichzeitige Verabfolgung von Kaliumperchlorat (100 mg/kg/Tag, Gruppe 7) ließ den Thyroxineffekt völlig unbeeinflußt; auch jetzt kam es lediglich zu einer Abnahme des Gesamteiweißes, im wesentlichen auf Kosten des Albumins. Ein Anstieg der β-Globuline wurde nicht beobachtet.

B. Hypophysektomierte Tiere.

Obwohl die hypophysektomierten Tiere einem anderen Stamm als die mit antithyreoidalen Substanzen behandelten entnommen waren — und die folgenden Befunde daher mit diesem Vorbehalt zu betrachten sind — fällt bei einem Vergleich der Mittelwerte der Serumeiweißfraktionen ein deutlich höherer Serumeiweißgehalt der unbehandelten hypophysektomierten Ratten auf. Dieser ist fast ausschließlich auf eine Zunahme der

Tabelle 1. *Das Verhalten der Serumeiweißfraktionen von Ratten nach Verabfolgung von Kaliumperchlorat, Methylthiouracil, Thyroxin und Thyroxin + Kaliumperchlorat.* Angaben in g-%. Gruppennumerierung siehe Methodik.

Gruppe	1 Kontrollen	2 $KClO_4$ 250mg/Tag 14 Tage	3 $KClO_4$ 100mg/Tag 21 Tage	4 $KClO_4$ 100mg/Tag 28 Tage	5 MTU 100mg/Tag 14 Tage	6 Thyroxin 0,3 mg/Tag 11 Tage	7 Thyroxin 0,3 mg/Tag + $KClO_4$ 100mg/Tag 11 Tage
Gesamt-eiweiß . .	6,93	6,79	6,95	7,39	7,92	5,62	5,82
$\pm \sigma M$ . . .	0,193	0,172	0,201	0,181	0,288	0,167	0,180
Albumin . .	4,45	3,92	4,49	3,98	4,58	3,50	3,70
$\pm \sigma M$ . . .	0,298	0,193	0,215	0,155	0,305	0,255	0,261
Gesamt-globulin .	2,48	2,87	2,44	3,41	3,34	2,10	2,12
$\pm \sigma M$ . . .	0,197	0,136	0,164	0,076	0,281	0,120	0,275
α-Globulin .	0,68	0,73	0,45	0,86	0,86	0,60	0,55
$\pm \sigma M$ . . .	0,145	0,052	0,164	0,073	0,078	0,076	0,051
β-Globulin .	0,95	1,60	1,39	1,84	1,70	0,84	0,79
$\pm \sigma M$ . . .	0,124	0,115	0,150	0,208	0,188	0,055	0,190
γ-Globulin .	0,86	0,51	0,59	0,71	0,78	0,69	0,78
$\pm \sigma M$ . . .	0,131	0,091	0,033	0,096	0,083	0,079	0,097
Albumin-Globulin-Quotient .	1,80	1,36	1,84	1,17	1,37	1,66	1,75
$\pm \sigma M$ . . .	0,142	0,109	0,151	0,076	0,299	0,223	0,294

β-Globuline zurückzuführen (vgl. Tab. 1 u. 3), d. h. es bestand eine Eiweißrelation im Serum, die mit der nach Behandlung mit antithyreoidalen Substanzen nahezu identisch war. Auch der Albumin-Globulin-Quotient lag entsprechend niedrig.

Der Einfluß von thyreotropem Hormon, Kaliumperchlorat und der kombinierten Behandlung mit thyreotropem Hormon + Kaliumperchlorat auf das Serumeiweißbild ist aus den Tab. 2 u. 3 ersichtlich. Bei isolierter Berücksichtigung der relativen Eiweißverhältnisse (Tab. 2) ließen sich außer einer mäßigen α-Globulinzunahme bei gleichzeitiger β-Globulinabnahme nach Gabe von Thyreotropin keine eindeutige Verschiebungen feststellen.

Dagegen ändert sich das Bild bei Betrachtung der Absolutwerte (Tab. 3). Verabfolgung von thyreotropem Hormon führte zu einer Senkung des Gesamteiweißes um etwa 10% (—0,71 g-%). An dieser Ab-

Tabelle 2. *Das Verhalten der Serumeiweißfraktionen (Relativwerte) hypophysektomierter Ratten unter Behandlung mit TSH, TSH + $KClO_4$ und mit $KClO_4$.*

Gruppen 8—11 (siehe Methodik). Angaben in Relativ-%. n = je 7 Tiere.

Gruppe	Unbehandelte Kontrollen	TSH	TSH + $KClO_4$	$KClO_4$
Albumin	56,61	55,34	57,78	57,20
Gesamtglobulin . .	43,39	44,66	42,22	42,80
α-Globulin	10,67	14,60	11,73	11,90
β-Globulin	20,93	17,66	18,63	20,96
γ-Globulin	11,79	12,40	11,86	9,94

Tabelle 3. *Die Serumeiweißfraktionen hypophysektomierter Ratten nach Behandlung mit TSH, TSH + $KClO_4$ und mit $KClO_4$.*

Gruppen 8—11 (siehe Methodik). n = je 7 Tiere. Angaben in g-% (Absolutwerte).

Gruppe	Unbehandelte Kontrollen	TSH	TSH + $KClO_4$	$KClO_4$
Gesamteiweiß. . .	7,44	6,67	7,02	7,81
$\pm \sigma M$	0,117	0,078	0,125	0,137
Albumin	4,21	3,69	4,06	4,47
$\pm \sigma M$	0,138	0,163	0,207	0,230
Gesamtglobulin . .	3,23	2,98	2,96	3,34
$\pm \sigma M$	0,152	0,139	0,114	0,193
α-Globulin	0,79	0,97	0,82	0,93
$\pm \sigma M$	0,034	0,067	0,073	0,063
β-Globulin	1,57	1,18	1,31	1,64
$\pm \sigma M$	0,119	0,109	0,124	0,192
γ-Globulin	0,88	0,83	0,83	0,78
$\pm \sigma M$	0,076	0,074	0,119	0,066
Albumin-Globulin-Quotient	1,30	1,24	1,37	1,34
$\pm \sigma M$	0,106	0,118	0,119	0,164

nahme waren in erster Linie die Albumine (mit 0,52 g-%) beteiligt. Der Gesamtglobulinspiegel sank um 0,25 g-%. Dabei bewegten sich jedoch nicht alle Globulinfraktionen in gleicher Richtung: während die γ-Globuline unbeeinflußt blieben, nahmen die α-Globuline um 23% zu und die β-Globuline um 40% ab. Im ganzen gesehen resultierte nach Behandlung hypophysenloser Ratten mit thyreotropem Hormon eine Verschiebung der Serumeiweiße zu Normalwerten.

Bei gleichzeitiger peroraler Gabe von Kaliumperchlorat während der Behandlung mit thyreotropem Hormon (Gruppe 10) kamen die nach

alleiniger Thyreotropin-Applikation zu beobachtenden Serumeiweißveränderungen nicht zur Ausbildung: es fehlte sowohl die Albuminabnahme als die α-Globulinzunahme; auch die Verminderung der β-Globuline war nur geringgradig (—17%) und statistisch nicht signifikant.

Die Behandlung mit Kaliumperchlorat (100 mg/kg/Tag; Gruppe 11) war ohne Einfluß auf das Serumeiweißbild der hypophysektomierten Ratten.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Angaben der Literatur über das Verhalten des Gesamteiweißes im Serum bei *Hyperthyreosen und nach Thyroxingaben* im Tierversuch sprechen übereinstimmend von einem normalen bzw. verminderten Gesamteiweißwert (Agnoletto u. Agnoletto, 1950; Antognetti u. Ghigliotti, 1952; Bartels, 1938; Brown u. Mecray, 1938; Horst u. Kuhlencordt, 1954; Lewis u. McCullagh, 1944; Man, Gildea u. Peters, 1942).

Auch wir fanden eine Abnahme des Gesamteiweißes sowohl am Normaltier nach Thyroxinbehandlung als an hypophysenlosen Tieren

Tabelle 4. *Statistische Auswertung der in Text und Tabellen zitierten Mittelwerte der einzelnen Gruppen.* Gruppenbezeichnungen siehe Methodik.

Verglichene Gruppen	Gesamteiweiß	Albumin	Gesamtglobulin	α-Globulin	β-Globulin	γ-Globulin	Albumin-Globulin-Quotient
1/ 2	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,006**	> 0,1	0,05*
1/ 3	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,05*	> 0,1	> 0,1
1/ 4	0,07	> 0,1	0,003**	> 0,1	0,009**	> 0,1	0,006**
1/ 5	0,016*	> 0,1	0,03*	> 0,1	0,016*	> 0,1	> 0,1
1/ 6	< 0,001***	< 0,001***	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
1/ 7	0,0015**	< 0,001***	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
2/ 4	0,055	> 0,1	0,014*	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
2/ 5	0,014*	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
3/ 4	> 0,1	0,09	0,001**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,006**
4/ 5	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
6/ 7	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
8/ 9	< 0,001***	0,035*	> 0,1	0,04*	0,038*	> 0,1	> 0,1
8/10	0,035*	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
8/11	0,055	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
9/10	0,038*	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
9/11	< 0,001***	0,018*	> 0,1	> 0,1	0,07	> 0,1	> 0,1
10/11	0,001**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1

nach Anregung der Thyroxinsynthese durch thyreotropes Hormon. Diese *Verminderung des Gesamteiweißes* im Serum ging fast ausschließlich auf Kosten der Albumine vor sich. Entsprechende Befunde teilten Agnoletto u. Agnoletto (Versuche an Kaninchen) mit. Den von Mahaux u. Körw (1952) in zwei Fällen von Myxödem festgestellten Albuminanstieg nach Thyroxinbehandlung beobachteten wir weder nach Gaben von thyreotropem Hormon bei hypophysektomierten Ratten noch nach

Thyroxinverabfolgung an Ratten, bei denen durch Jod^{131} eine Hypothyreose erzeugt worden war (Kleinsorg, Krüskemper u. Lopez 1955).

Die durch Thyroxin verursachte Albuminverminderung ist auch bei kombinierter Behandlung mit Kaliumperchlorat deutlich nachweisbar (vgl. Tab. 1). Die bei hypophysenlosen Ratten nach Behandlung mit thyreotropem Hormon auftretende Albuminverminderung wird hingegen durch gleichzeitige Verabfolgung von Kaliumperchlorat verhindert. Hieraus darf der Schluß gezogen werden, daß die Abnahme des Serumalbumins als typische Thyroxinwirkung angesehen werden kann.

Die *Ursache dieser Albuminverminderung* ist außer in einem gesteigerten Eiweißumsatz in erster Linie in einer durch Thyroxin bedingten Störung der Albuminsynthese in der Leber zu suchen.

Die Lebern von Patienten mit Hyperthyreose zeigen nach Assmann 1931, Rössle 1933, Weller 1933, Lichtmann 1941 u. a. deutliche morphologische Veränderungen im Sinne einer Hepatitis, zum Teil von Cirrhosen und gelegentlich sogar von akuten Dystrophien. Diesen Befunden entsprechen Funktionsstörungen der Leber, worauf Angaben über Störungen des Galactosetestes (Althausen, Lockhardt u. Soley 1940, Stenstam 1946) und über eine Verminderung des Prothrombinspiegels im Blut bei Thyreotoxikosen (Lord u. Andrus 1941, Bickel u. Dicker 1942, Müller-Handschuh 1952 u. a.) hindeuten.

Sowohl Thyroxingaben an Normaltiere als auch Verabfolgung von thyreotropem Hormon an hypophysektomierte Tiere ließen den *Globulin*gehalt des Serums praktisch unbeeinflußt. Eine mäßige und statistisch nicht zu sichernde Abnahme aller Globulinunterfraktionen nach Thyroxin (vgl. Tab. 1, Gruppe 6) könnte die gleichen Ursachen besitzen wie die Albuminverminderung. Auch aus der Literatur ergibt sich kein Hinweis auf typische Globulinverschiebungen bei Schilddrüsenüberfunktion.

Im Gegensatz zu der Abnahme des Serumeiweißes bei hyperthyreotischer Stoffwechsellage fanden wir *bei herabgesetzter Schilddrüsenfunktion* eine *Zunahme des Gesamteiweißes*. Wir konnten diesen Befund nach Behandlung mit Kaliumperchlorat und Methylthiouracil (Tab. 1) ebenso wie nach Ausschaltung der Schilddrüse durch Jod^{131} (Kleinsorg, Krüskemper u. Lopez 1955) erheben. Ähnliche Beobachtungen beschrieben Lewis u. McCullagh (1944) bei idiopathischem Kretinismus. Auch die Ergebnisse unserer Untersuchungen an hypophysektomierten Tieren wiesen in die gleiche Richtung; hier konnte der erhöhte Gesamteiweißwert (Tab. 3) durch thyreotropes Hormon zur Norm zurückgeführt werden, und ist demnach als Ausdruck einer Unterfunktion der Schilddrüse anzusehen.

Diese Vermehrung des Gesamteiweißes beruhte ausschließlich auf einer Vermehrung der *Globuline*. Im einzelnen zeigten die Unterfraktionen ein *verschiedenes Verhalten*. Während die α-Globuline nicht an den Veränderungen teilnahmen, reagierte die γ-Fraktion nur nach Radio-Jod-Behandlung (Kleinsorg, Krüskemper u. Lopez 1955) mit einem

Anstieg. Die β-Globuline hingegen nahmen in jedem Fall (nach Kaliumperchlorat- und Methylthiouracil-Behandlung, nach Hypophysektomie und nach Gaben von Jod^{131}) zu. Auch klinische Untersuchungen bei Kretinismus und Myxödem ließen konstant diesen β-Globulinanstieg erkennen (Lewis u. McCullagh 1944).

Über die Ursache der β-Globulinvermehrung bei hypothyreotischer Stoffwechsellage lassen sich wegen mangelnder Kenntnisse über die Bildung dieser Fraktion keine sicheren Aussagen machen. Bei früheren Untersuchungen über das Serumeiweiß nach Jod^{131}-Behandlung fanden wir keine feste Korrelation zwischen β-Globulin und Serumcholesterin. Damit dürfte die Annahme einer gesteigerten β-Globulinsynthese als Anpassung an die erhöhten Anforderungen hinsichtlich eines Cholesterin-„Vehikels" (vgl. Bennhold u. Ott 1952) unwahrscheinlich sein.

Aus den geschilderten Befunden ergibt sich somit für die Hyperthyreose bzw. für den Zustand nach Thyroxinbehandlung als spezifische Veränderung des Serumeiweißes eine Abnahme des Gesamtwertes, die praktisch ausschließlich durch eine Verminderung der Albumine zustande kommt. Als typisch für eine — wie auch immer entstandene — Hypothyreose ist eine Zunahme des Gesamteiweißes im Serum auf Grund einer isolierten β-Globulinvermehrung anzusehen.

Zusammenfassung.

Untersuchungen des Serumeiweißes von Ratten bei experimenteller Hyper- und Hypothyreose ergaben:

1. Thyroxinbehandlung senkt durch Verminderung des Albumins den Gesamteiweiß-Spiegel. Gleichzeitige Behandlung mit Kaliumperchlorat vermag diesen Thyroxineffekt nicht zu beeinflussen.

2. Kaliumperchlorat und Methylthiouracil bewirken eine von Dosis und Dauer der Verabfolgung abhängige Zunahme des Gesamteiweißes im Serum. Hierfür ist eine isolierte β-Globulinvermehrung verantwortlich.

3. Der bei hypophysektomierten Ratten erhöhte Gesamteiweißgehalt des Serums wird durch thyreotropes Hormon gesenkt. Hieran sind vorwiegend die Albumine, weniger das β-Globulin beteiligt. Diese Wirkung des thyreotropen Hormons wird durch Kaliumperchlorat verhindert. Kaliumperchlorat allein ist ohne Einfluß auf das Serumeiweiß hypophysenloser Tiere.

Literatur.

Agnoletto, A., e C. Agnoletto: Fol. endocrinol. (Pisa) **3**, 159 (1950). — Althausen, T. L., J. C. Lockhart and H. M. Soley: Amer. J. Med. Sci. **199**, 342 (1940). — Antognetti, P. E., e G. Ghigliotti: Arch. „E. Maraghano" Pat. **7**, 139 (1952). — Antweiler, H. J.: Kolloid. Z. **115**, 130 (1949). — Assmann, H.: Münch. med. Wschr. **1931**, 221. — Bartels, E. C.: New England J. Med. **218**, 289 (1938). — Bennhold, H., u. H. Ott: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 475. — Bickel, G., u. S. Dicker: Schweiz. med. Wschr. **1942**, 411. — Brown, R. B., and

P. M. Mecray: Endocrinology **22**, 302 (1938). — Dole, V. P.: J. Clin. Invest. **23**, 708 (1944). — Hartmann, F., u. G. Schumacher: Z. Naturforsch. **5** b, 361 (1950). — Horst, W., u. F. Kuhlencordt: Dtsch. med. Wschr. **1954**, 399. — Kleinsorg, H., H. L. Krüskemper u. C. Lopez-Calleja: Acta endocrinol. (Copenh). (Im Druck.) — Krüskemper, H. L., u. H. Kleinsorg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 469 (1954). — Lever, W. F., F. R. N. Gurd, E. Uroma, R. K. Brown, B. A. Barnes, K. Schmid and E. L. Schultz: J. Clin. Invest. **30**, 99 (1951). — Lewis, L. A., and E. P. McCullagh: Amer. J. Med. Sci. **208**, 727 (1944). — Lichtman, S. S.: Ann. Int. Med. **14**, 1199 (1941). — Lord, J. W., and W. W. Andrus: Arch. Surg. **42**, 643 (1941). — Mahaux, J., et E. Köiw: Ann. d'Endocrin. **13**, 691 (1952). — Man, E. B., E. F. Gildea and J. P. Peters: J. Clin. Invest. **21**, 773 (1942). — Müller-Handschuh, V. G.: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 572. — Pätau, K.: Biol. Zbl. **62**, 153 (1943). — Rössle, R.: Arch. path. Anat. **291**, 1 (1933). — Stanbury, J. B., and J. B. Wyngaarden: Metabolism (Baltimore) **1**, 533 (1952). — Stenstam, T.: Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. 177 (1946). — Weller, C. V.: Ann. Int. Med. **7**, 543 (1933).

Dr. H. Kleinsorg und Dr. H.-L. Krüskemper, Medizinische Universitätsklinik, Göttingen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 505—511 (1955).

Aus dem Medizinisch-Diagnostischen Institut der Städt. Krankenanstalten Karlsruhe
(Chefarzt: Prof. Dr. med. W. Riechert).

Untersuchungen über Permeabilitätsförderung durch den Sympathicus.

Von
Willi Riechert und Werner Maas.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Januar 1955.)

Neben den bekannten pharmakologischen Wirkungsqualitäten des Adrenalins wird diesem noch ein fördernder Einfluß auf die Permeabilität der Gefäße zugeschrieben. Man glaubt, daß diese Wirkung innig mit der sympathischen Innervation verknüpft ist. Für die im Sinne der Notfallfunktion gedeutete Aufrechterhaltung der Leistungssteigerung, besonders von seiten der Muskulatur, muß ein vermehrter Stoffaustausch vom Gefäß zur Zelle und umgekehrt stattfinden. Dieser Stoffaustausch ist zum Teil auch von der Erweiterung der Endcapillaren abhängig und scheint unter dem fördernden Einfluß des Sympathicus zu stehen.

Tschermak schreibt dem Vagus im Bereich der Lungen einen Dauereinfluß im Sinne einer Abdichtung der Gefäße zu; doppelseitige Vagotomie führt durch das Überwiegen des Sympathicus zu Lungenödem. Kaykawa konnte eine verzögerte Ausscheidung parenteral gegebener fluoreszierender Stoffe in das Kammerwasser feststellen, wenn das Ganglion cervicale superius exstirpiert wurde.

Durch Ausschaltung des Sympathicus mit Mutterkornalkaloiden können toxische Lungenödemformen nach Adrenalin, Cardiazol und Veratrin verhindert werden (Riechert; Horst). Rummel u. Driesen konnten nach doppelseitiger Vagotomie eine wesentliche Anreicherung von Sulfonamiden in der Lunge erzielen.

Der ödemverhindernde Effekt der Mutterkornalkaloide konnte auch am Rattenpfotenödem (durch Hühnereiweiß) nachgewiesen werden. (Riechert u. Klein, Riechert u. Barghorn.)

Es erschien von Interesse zu prüfen, ob durch die pharmakologische Ausschaltung sympathischer Ganglien gleiche oder ähnliche Effekte wie nach operativer Ausschaltung zu erzielen sind. Daher wurde das Pendiomid als Ganglienblocker untersucht, und zwar am Test des toxischen Adrenalin-Lungenödems, an Krämpfen durch Cardiazol, Coramin und Pikrotoxin und am Pfotenödem nach Hühnereiweiß, stets an Ratten.

In diese Untersuchungen wurden Atropin, Doryl (Carbaminoylcholin), „Echinacin“[1] und „Plenosol“[1] einbezogen.

[1] Über diese Präparate vgl. am Schluß der Arbeit.

Tabelle 1.

Anzahl von Tieren	Krampfmittel mg/kg Tier	Antikonvulsivum mg/pro Tier	Wirkungen		Letal
			krampfartige Zuckungen	schwere kontinuierliche Krämpfe	
		Cardiazol			
15	60	—	—	15	1
		Pendiomid			
16	60	10	15	1	1
5	70	—		5	2
		Pendiomid			
3	70	10	3	—	—
7	80	—	—	7	5
		Pendiomid			
7	80	10	1	6	4
15	60			15	1
		Doryl			
3	60	0,05 mg/kg	—	3	—
4	60	0,8 mg/kg	—	4	2
5	50	—	1	4	1
		Echinacin 3 Tage			
6	50	0,5 cc Tier	—	6	1
		Plenosol 2 Tage			
4	50	0,5 cc Tier	—	4	2
		Coramin			
6	250	—		6	1
		Pendiomid			
6	250	10	6	—	—
6	250	—	—	6	1
		Doryl			
4	250	0,8 mg/kg	4	—	1
		Pikrotoxin			
3	2	—		3	1
		Pendiomid			
3	2	10	3	—	—
3	2,5	—		3	1
		Pendiomid			
4	2,5	10	1	1	2
3	3,75	—	—	3	3
		Pendiomid			
3	3,75	10	—	3	3

Versuchsergebnisse.

1. *Adrenalin-Lungenödem.* Pendiomid und Echinacin verhindern das toxische Lungenödem nicht.

2. *Krampferzeugende Pharmaka.* Die Versuchstiere erhielten intravenös krampferregende Dosen von Cardiazol, Coramin und Pikrotoxin

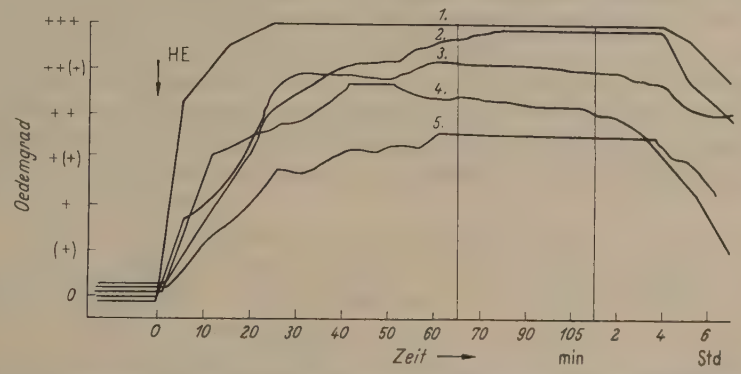


Abb. 1. 1. Kontrollen. 2. Ödemverlauf nach Pendiomidvorbehandlung. 3. Ödemverlauf nach Kombination mit DHE und Pendiomid. 4. Ödemverlauf nach CCK bzw. DHE. 5. Ödemverlauf nach 3tägiger Vorbehandlung mit DHE.

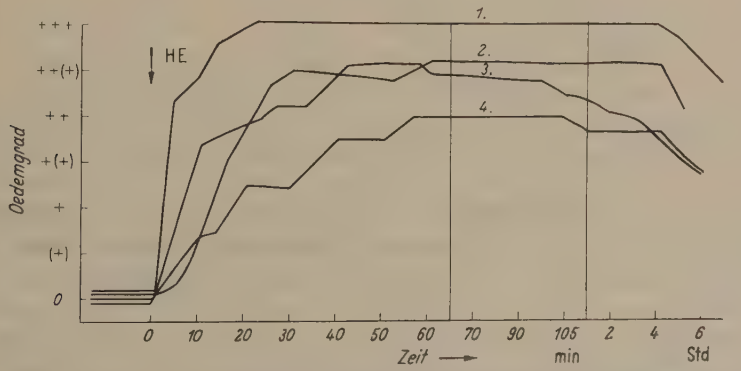


Abb. 2. 1. Kontrollen. 2. Ödemverlauf nach Pendiomid und Echinacin. 3. Ödemverlauf nach Echinacin. 4. Ödemverlauf nach 3tägiger Vorbehandlung Echinacin.

(Tab. 1). Im Vergleich zu Kontrolltieren wurde je eine Tierserie mit Pendiomid, Doryl, Echinacin oder Plenosol behandelt.

Zusammengefaßt haben die Untersuchungen folgendes ergeben:

Pendiomid wirkte bei Cardiazol-, Coramin- und Pikrotoxinkrämpfen deutlich antikonvulsiv. Doryl wirkte im gleichen Sinne, jedoch nicht bei Cardiazolkrämpfen; nach Vorbehandlung mit Doryl wurde die Latenzzeit des Pikrotoxins hinausgezögert, die Krampfintensität merklich gemindert.

Vorbehandlung mit Echinacin und Plenosol beeinflußte die Intensität der Cardiazolkrämpfe nicht (Tab. 1).

3. *Rattenpfotenödem.* Es wurde in der üblichen Weise durch lokale Applikation von Hühnereiweiß provoziert. Für die Beurteilung der Methode, besonders des Ödemgrades vgl. Riechert u. Barghorn.

In Übereinstimmung mit unseren früheren Untersuchungen zeigten die hydrierten Mutterkornalkaloide Dihydroergotamin (DHE) und Hydergin (CCK) einen ödemverhindernden Effekt. Im Vergleich zu den Kontrolltieren wurde die volle Ödemstärke nie erreicht. Nach 3tägiger Vorbehandlung schien der Effekt stärker zu sein als nach nur einmaliger (Abb. 1).

Pendiomid bewirkte besonders während der ersten Periode des Ödemverlaufes ein vermindertes Anfluten, doch wurde 60—70 min nach der

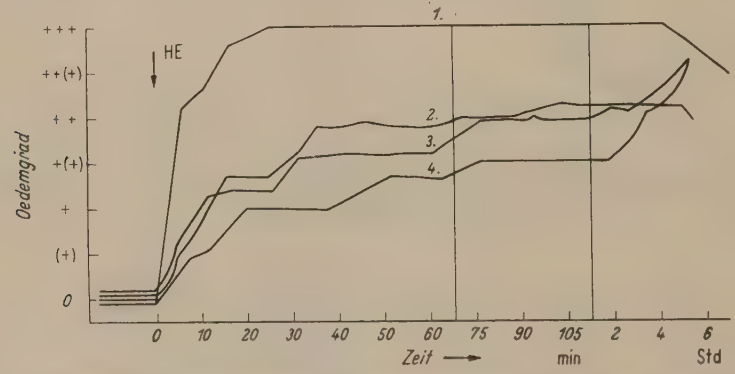


Abb. 3. 1. Kontrollen. 2. Ödemverlauf nach Veritolvorbehandlung. 3. Ödemverlauf nach Arterenolvorbehandlung. 4. Ödemverlauf nach Adrenalinvorbehandlung.

Provokation der gleiche Ödemgrad wie bei den Kontrolltieren erreicht. Eine Kombination von Mutterkornalkaloiden und Pendiomid hatte ein langsameres Anfluten ohne Erreichen des höchsten Ödemgrades zur Folge (Abb. 1).

Das Echinacin zeigte einen ähnlichen Effekt wie die besprochenen Mutterkornalkaloide; bei mehrtägiger Vorbehandlung der Versuchstiere war er stärker (Abb. 2).

Pharmaka mit ausgeprägter gefäßconstrictorischer Wirkung wie Adrenalin, Arterenol und Veritol zeigten ebenfalls einen ödemverhindernden Effekt (Abb. 3).

Plenosol war wirkungslos.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Entstehung des toxischen Adrenalin-Lungenödems ist komplexer Natur. Mehrere Faktoren wie Entspeicherung der Blutdepots, Erweiterung der Lungencapillaren, toxisch bedingtes Versagen des Herzens

führen letzten Endes zum Lungenödem; unentschieden bleibt, inwieweit eine Veränderung der Permeabilität im Bereich der Lungencapillaren durch Adrenalin daran beteiligt ist.

Bei anderen Formen des toxischen Lungenödems z. B. durch Veratrin (Riechert; Horst) scheint mit großer Sicherheit durch die Vorbehandlung mit Gynergen bzw. Dihydroergotamin (DHE) über den sympathikolytischen Effekt die permeabilitätsbehindernde Wirkung im Bereich der Lungen zum Ausdruck zu kommen und damit zur Verhinderung des Lungenödems zu führen.

Beim Pendiomid bestätigte sich der Unterschied seiner Wirkungsweise als Ganglienblocker von der der Sympathikolytika. Im Gegensatz zu den Mutterkornalkaloiden hob es die toxische Wirkung des Adrenalins nicht auf, wie auch andere Autoren bereits feststellen konnten (Bein, Gross, Tripod u. Schuler).

Da jedoch das Pendiomid bei toxischen Krämpfen ähnlich wie die Mutterkornalkaloide antikonvulsiv wirkt (Tab. 1), könnte man daran denken, daß es wie diese durch Minderung der Permeabilität der Bluthirnschranke das Anfluten der Krampfmittel an den pharmakologischen Wirkungsort verhindert.

Die Versuche mit Doryl sollten die Frage klären, ob die blutdrucksenkende Wirkung einen Einfluß auf den Krampfverlauf ausübt. Bei Anwendung geringer Dosen von Doryl (0,05 mg/kg) ließ sich weder beim Cardiazol noch beim Coramin ein antikonvulsiver Effekt feststellen, obwohl deutliche parasympathische Wirkungseffekte zu sehen waren. Bei Erhöhung der Dosis auf 0,8 mg/kg Doryl zeigte sich gegenüber Cardiazol und Coramin ein antikonvulsiver Effekt, beim Cardiazol allerdings nur als Herabminderung der Intensität. Der äußerst intensiv verlaufende Coraminkrampf kann durch Doryl durchbrochen werden, so daß nur noch einzelne Anfälle auftreten. Beim Pikrotoxin waren sowohl Doryl als auch Pendiomid gleichmäßig wirksam.

Die von Eichholtz aufgestellte Regel, daß Gefäßspasmolytika antikonvulsiv bei solchen Krampfgiften wirken, deren Krampfverlauf mit Gefäßspasmen einhergeht, kann auf Grund unserer Untersuchungen nicht angezweifelt werden. Im Gegenteil bestätigten sie für Coramin und Pikrotoxin diese Auffassung; daß aber einzig und allein die Gefäßdilatation und damit die blutdrucksenkende Wirkung den antikonvulsiven Effekt hervorruft, ist unwahrscheinlich, da wir beim Cardiazol eine verschiedene Krampfbeeinflussung einerseits durch Pendiomid, andererseits durch Doryl erzielten. Außerdem wirkt das Gynergen nicht als gefäßerweiterndes Spasmolytikum antikonvulsiv. Vielleicht bewirkt beim Krampf wie auch beim Rattenpfotenödem das Doryl durch parasympathische Anregung Ähnliches, wenn auch nicht Gleiches, wie Mutterkornalkaloide und Pendiomid durch sympathische Hemmung. Damit würde es auch der Permeabilitätsförderung des Sympathicus entgegenwirken.

An der Rattenpfote beeinflussen Mutterkornalkaloide besonders die zweite, die eigentliche Ödemphase. Dieser Effekt wird aufgefaßt im Sinne einer Hemmung der Permeabilitätsförderung durch den Sympathicus. Wichtig erscheint, daß Atropin durch die Ausschaltung aller parasympathischen Reaktionen das Ödem etwas stärker anlaufen läßt, keinesfalls aber Ödeme zu verhindern vermag.

Die Wirkung des Doryls war uneinheitlich. Danach dürfte die blutdrucksenkende Komponente nicht entscheidend für die Behinderung des Rattenpfotenödems sein, sonst müßte der Einfluß des Doryls einheitlich sein.

Wider Erwarten zeigten die Sympathicomimetika wie Adrenalin, Arterenol, Veritol, von denen man eine permeabilitätsfördernde Wirkung nicht erwarten sollte, einen behindernden Einfluß auf die Entwicklung des Ödems, worauf schon Gross aufmerksam gemacht hat.

Dieser Effekt ist wahrscheinlich auf eine allgemeine constrictorische Gefäßreaktion zurückzuführen, da nach Gabe dieser Pharmaka die Rattenpfote über längere Zeit blaß wurde.

Die Ödembehinderung durch Pendiomid ist ein anderer Effekt als der der Mutterkornalkaloide (Abb. 1). Es beeinflußt die erste Ödemphase und zögert den Übergang von der ersten zur zweiten Phase hinaus. Die Deutung dieses Ergebnisses erscheint nicht zu schwierig, wenn man annimmt, daß Pendiomid elektiv vegetative Ganglien ausschaltet, (Bein, Gross usw.) womit der Einfluß des vegetativen Systems auf das entzündliche Geschehen unterdrückt wird.

Angeregt durch verschiedene klinische und experimentelle Arbeiten über eine günstige therapeutische Wirkung von „Echinacin", einem Frischpflanzenextrakt aus Echinacea purpurea, dem roten Sonnenhut, bei entzündlichen Erkrankungen, wurde auch dieses Präparat auf ödembehindernde Wirkung untersucht. Dabei konnte ein deutlicher Effekt, ähnlich dem der Mutterkornalkaloide, beobachtet werden, er verstärkte sich bei mehrtägiger Vorbehandlung.

Durch den Mistelextrakt „Plenosol" konnten weder Cardiazolkrämpfe noch die Hühnereiweißentzündung der Rattenpfote beeinflußt werden.

Zusammenfassung.

1. Pendiomid und Echinacin verhindern nicht das toxische Adrenalin-Lungenödem.

2. Pendiomid wirkt antikonvulsiv bei Cardiazol-, Coramin- und Pikrotoxinkrämpfen.

3. Doryl wirkt antikonvulsiv bei Coramin- und Pikrotoxinkrämpfen und nicht wesentlich bei Cardiazolkrämpfen.

4. Pendiomid verzögert nur das Anfluten des Rattenpfotenödems, die seröse Ausbreitung wird nicht gehemmt.

5. Die hemmende Wirkung des Doryls auf das Rattenpfotenödem ist uneinheitlich.

6. Adrenalin, Arterenol und Veritol wirken stark hemmend auf das Rattenpfotenödem.

7. Echinacin hemmt ähnlich wie das Dihydroergotamin die ödematöse Ausbreitung der Entzündung der Rattenpfote, besonders nach mehrtägiger Vorbehandlung.

Den Herstellerfirmen möchte ich für die Überlassung der verwendeten Präparate meinen Dank aussprechen.

Literatur.

Bein, H. J., F. Gross, W. Schüler u. J. Tripod: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 1143. — Gross, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 421 (1950). — Horst, H. G.: Z. exper. Med. **116**, 179 (1950). — Kayawa, Q.: zit. nach Weiser. — Riechert, W., u. H. Klein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 425 (1950). — Riechert, W., u. H. Barghorn: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **221**, 489 (1954). — Riechert, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 82 (1951). — Rummel, W., u. Q. Driesen: Dtsch. med. Wschr. **1949**, 965. — Tschermack, Q.: Allgem. Physiologie. Bd. 11, S. 425, 582. — Weiser, J., u. J. Rienmüller: Pflügers Arch. **233**, 385 (1934).

Prof. Dr. med. W. Riechert, Karlsruhe, Städt. Krankenanstalten, Molktestr. 14.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 512—521 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Zur adstringierenden Wirkung von Schwermetallsalzen.

Von

S. K. Bhattacharya, W. Heubner und M. Kramer.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Januar 1955.)

Die adstringierende Wirkung (Adstriktion) wird in der Volksheilkunde, wie in einfachen Fällen der ärztlichen Praxis dauernd angewandt, doch hat ihre geringe, rein palliative Bedeutung bei forschenden Pharmakologen nur selten Interesse erregt; vielfach hat man auch wirkliche Feststellungen ignoriert, sich vielmehr bis zum heutigen Tage mit der vereinfachenden Annahme begnügt, daß es sich dabei um eine „Eiweißfällung" und Bildung einer Art „Koagulationsmembran" handele.

Diese Einstellung hat einige unerwünschte Folgen: erstens gibt sie einen falschen Tatbestand wieder, denn eine wirkliche allgemeine „Eiweißfällung" auf einer Schleimhaut oder gar Augenbindehaut — sei sie auch noch so gering — würde eine entzündliche Reaktion zur Folge haben, während Adstringentien gerade gegen entzündliche Prozeße empirisch bewährt sind. Zweitens kommt dadurch jeder Lernende, wenn er nachdenkt, in einen Konflikt des Verständnisses. Drittens kommt man zu ganz unrichtigen Folgerungen, wie z. B. zu der, daß auch Säuren „adstringierend" wirkten. Viertens aber verbaut man sich den Blick für die interessanten Probleme, die die Adstriktion dem Erkenntnisvermögen stellt.

Zu den „wirklichen Feststellungen" rechnen wir Beobachtungen, die im Pharmakologischen Institut der Berliner Friedrich Wilhelm Universität vor etwa $1\frac{1}{2}$ Jahrzehnten gemacht wurden. Brock und Druckrey ermittelten, daß Tannin zu 10^{-4} am isolierten Froschherzen keine, am hypodynamen oder calciumarm durchströmten aber eine funktionssteigernde Wirkung ausübt. Auch die schädliche und schließlich tödliche Schwellendosis von $2{,}10^{-4}$ verbesserte zunächst die Hubhöhe, führte auch bald zu einer Verminderung der diastolischen Füllung — also zu einer Verkürzung der Muskelfasern im erschlafften Zustand. (Spuren von Säure hatten diesen Effekt nie.) Histologisch zeigte sich der Gerbstoff nur auf den *Oberflächen*, niemals im Muskelplasma, selbst nach Versagen seiner Funktion, also der Herzkontraktionen. Es ist sehr bemerkenswert, wie lange Zeit die Muskelfasern trotz Gegenwart von Gerbstoff auf ihrer *Oberfläche* in ziemlich dichter Packung noch Kontraktionen fortsetzen können. Mehlhardt fand Tannin (wie auch Bleisalz) an der Bindehaut der Katze vordringend *zwischen* den Zylinderepithelien bis zur Basalmembran und in dieser stark angereichert. Röske sah auf der Mundschleimhaut von Kaninchen nur an *verletzten* Stellen ein Vordringen von Tannin (und Aluminiumsalz) über die Basalmembran hinaus in die Tiefe des Gewebes. Heubner, Schreiber und Matton endlich studierten die Verminderung der Dehnbarkeit von Froschlungen unter der Einwirkung von Tannin und Aluminiumsalz (auch Silbernitrat) und suchten danach im Gewebe diese Substanzen auf: Sie

fanden sich *niemals* im Protoplasma selbst der zarten einschichtigen Zellagen der Lungenalveolen, stets aber stark angereichert in den fibrinösen und elastischen Fasern und Membranen des Bindegewebes — weniger auch auf den *Oberflächen* der Zellen.

Somit liegt auch das wissenschaftliche Interesse bei dieser Gruppe pharmakologischer Agentien gerade darin, daß sie in gewissen Konzentrationsbereichen *kein* Eiweiß der zelligen Gewebselemente fällen, dagegen eine ausgesprochene Affinität zu dem Material des Stützgewebes besitzen. Die dabei angedeutete Analogie zwischen den genannten Strukturen und den Oberflächen von Zellen erscheint bemerkenswert, wenn man sich die Entstehung dieser Strukturelemente aus Zellprotoplasma vergegenwärtigt.

Den Einfluß auf faseriges Bindegewebe hat bereits Komiyama an Rattensehnen studiert, doch ohne ihre chemische Eigenart hervorzuheben. Mit deutlicherer Rücksichtnahme auf die strukturelle und chemische Besonderheit des Sehnengewebes untersuchte Wilbrandt mit Ryser und Witt am gleichen Objekt den Effekt einer größeren Reihe verschiedener Substanzen. Dabei kamen sie zur Unterscheidung von zwei Arten der Einwirkung, die an Verringerung oder Vergrößerung der Dehnbarkeit der Sehnen unter definierten Zugbedingungen erkannt wurde. Vergrößerung erzeugten Substanzen wie Harnstoff, Salicylat, Verringerung Tannin. Andere, wie etwa Formaldehyd, vor allem aber Salze des Aluminiums und Bleis wirkten in geringen Konzentrationen tanninartig, in hohen harnstoffartig.

Wilbrandt und seine Mitarbeiter schlossen aus ihren Befunden, daß Tannin und geringe Konzentrationen von Metallsalzen brückenartige Seitenverbindungen von Kettenmolekülen des Kollagens vermehren, Harnstoff und höhere Konzentrationen von Metallsalzen dagegen dieselben vermindern. Sie erkennen dabei im Gegensatz zu den meisten anderen Fachgenossen die oben skizzierten von Heubner und Mitarbeitern entwickelten Auffassungen an, nämlich unter Ablehnung der Bildung von „Koagulationsmembranen" den Angriff an *festen* Gewebsstrukturen. Wir glauben uns mit Wilbrandt und Mitarbeitern darüber einig zu sein, daß das „zusammenziehende" (adstringierende) Gefühl, z. B. auf der Mundschleimhaut des Menschen, durch Kontraktion elastischer und fibröser Gebilde zustandekommt, und daß von dem Augenblick an, wo mit höheren Konzentrationen von Adstringentien wirklich „Fällung" von Eiweiß erfolgt, sowohl die therapeutische Anwendbarkeit, wie der Begriff „Adstriktion" *aufhört*.

Daß solche Konzentrationen echter Adstringentien, die bereits eiweißfällend wirken, an Einzelzellen gerade die umgekehrten Veränderungen setzen wie die der Adstriktion zugehörigen, wurde schon vor langer Zeit experimentell gezeigt und durch Befunde anderer Autoren weiter belegt (Handovsky und Heubner, Handovsky und Masaki, Heubner).

Trotz der durch die Untersuchungen von Wilbrandt gewonnenen Förderung unserer Vorstellungen bleiben auf dem Gebiete der Adstriktion noch manche Probleme übrig. Darunter gehört die Frage, warum in der therapeutischen Empirie *gewisse* Metallsalze bevorzugt werden. Es ist leicht vorstellbar, daß Molekularstrukturen wie Gerbstoffe oder Hydroxyde dreiwertiger Metalle an oder in Fasern oder Membranen haften und schon durch ihre (histologisch nachweisbare) Anreicherung verfestigend wirken. Auch ist verständlich, daß Silberionen durch ihre Affinität zu dem in den Gewebeflüssigkeiten enthaltenen Chlorid besonders leicht festgehalten werden und ähnliche Beziehungen könnte man sich zwischen Blei und Phosphat denken (vgl. Heubner).

Gänzlich unklar aber ist es, warum gerade das Zinksulfat sich solcher Beliebtheit als Adstringens erfreut, da ja das Zink zu denjenigen Schwermetallen gehört, die sich in ihren chemischen Eigenschaften am meisten den Erdalkalien annähern; mag man zuweilen auch — nach unserer Meinung zu Unrecht — Calciumsalzen eine adstringierende Wirkung zuschreiben, so besteht doch wohl kein Zweifel, daß man mit Calcium- oder Magnesiumsalzen bei lokaler Anwendung therapeutisch nicht das gleiche erzielt, wie mit Zinksalzen, die in dieser Hinsicht dem Alaun oder dem Gerbstoff näher stehen. Auch wird niemand behaupten wollen, die charakteristische „adstringierende" Empfindung auf der Mundschleimhaut werde etwa durch Calciumsalze in gleicher Weise erzeugt wie durch Zink- oder andere Metallsalze oder durch Tannin. (Übrigens gilt das Gleiche wie für Calciumsalze auch für Formaldehyd, den Wilbrandt und auch Jung — z. B. mit Onnen — nach unserer Ansicht *fälschlich* zu den Adstringentien zählen.) — Leider ist unseres Wissens bisher keine Methode bekannt, um ähnlich wie Gerbstoff, Aluminium oder Blei auch das Zink im histologischen Schnitt nachzuweisen.

Solche Betrachtungen waren es, die den Anlaß zu den im folgenden geschilderten Versuchen gaben. Es wurde eine Reihe von Salzen verschiedener Metalle quantitativ darauf geprüft, wie sie die Dehnbarkeit isolierter Froschlungen herabsetzen. Überdies wurde an ausgeschnittenen Hornhäuten von Rindern ermittelt, wieviel Metall sie aus Lösungen von Metallsalzen in sich aufnehmen (vgl. Bhattacharya, Dissertation).

Frühere Untersuchungen von E. Seiler schienen für die Beurteilung des Verhaltens lebenden Gewebes unzulänglich, da sie technisch bearbeitetes „Hautpulver" benutzt hatte, dessen Proteine sicher verändert sind.

Methodik.

Der Dehnbarkeitsverlust von Froschlungen unter der Einwirkung verschiedener Metallsalze und des Tannins wurde nach der von Dreser angegebenen und später von Heubner und Schreiber verwendeten Methode gemessen. Dabei wurde die prozentuale Zunahme des Druckes ermittelt, der notwendig war, die Froschlungen nach der Behandlung auf das Ausgangsvolumen auszudehnen. Die Lungen der

ersten Versuchsreihe stammten von Temporarien, die der zweiten von Esculenten, da — jahreszeitlich bedingt — keine Temporarien mehr zur Verfügung standen. Geprüft wurden: Tannin, Alaun, Bleinitrat, Zinksulfat, Cadmiumsulfat, Kupfersulfat, Ferriammoniumsulfat, Ferroammoniumsulfat und Sublimat.

Die Hornhäute wurden zu mehreren (gewöhnlich 5) eine bestimmte Zeit, meistens zwei Stunden, der Einwirkung von 20 cm^3 Salzlösungen der gleichen Metalle in verschiedener Konzentration ausgesetzt. Die gebundene Menge wurde aus der Differenz der Ausgangskonzentration an Metall und der analytisch bestimmten Konzentration nach Beendigung des Versuches ermittelt und auf g Feuchtgewebe berechnet. Die Bestimmung der Metalle erfolgte colorimetrisch nach Herstellung einer Eichkurve. Zn^{++}, Cd^{++} und Hg^{++} wurden mit Dithizon nach Fischer-Leopoldi; Pb^{++}, Fe^{+++}, Cu^{++} und Al^{+++} nach bekannten „Einheitsverfahren der Wasseruntersuchung"; Fe^{++} mit o-Phenanthrolin-HCl nach Schäfer und Tannin mit Ferrichlorid nach bekanntem Verfahren bestimmt. Als Molekulargewicht für Acidum tannicum D.A.B. 6 wurde etwas willkürlich 1500 angenommen.

Ergebnisse.

I. Dehnbarkeitsversuche an Froschlungen.

In der ersten Versuchsreihe wurden wie bei Heubner u. Schreiber verschiedene Konzentrationen angewandt und diejenige Verdünnung ermittelt, die gerade noch einen Effekt hatte. Tab. 1 gibt einige ausgewählte, einigermaßen definierte Grenzwerte (Druckerhöhung von 9% und darüber) bei einer Einwirkungszeit von 5 oder 10 min wieder. Es ist ersichtlich, daß dreiwertiges Eisen bei weitem die stärkste „adstringierende" Wirkung hatte, Cadmium war am wenigsten und Ferroeisen gar nicht wirksam. Die Wirksamkeit von Cadmium zu Zink, Kupfer und dreiwertigem Eisen verhielt sich etwa wie 1 : 11 : 16 : 240. Tannin war ungefähr 190mal wirksamer als Cadmium. Bei den im zeitlichen Abstand von 1:2 geprüften Salzen verhielten sich die wirksamen Konzentrationen wie 2:1, also reziprok.

Tabelle 1. *Mol. Grenzkonzentrationen verschiedener Metallsalze und des Tannins mit gerade noch adstringierendem Effekt an der Froschlunge. Z = Zahl der Versuche.*

Angewandtes Salz	Z	5 min	Z	10 min
$FeSO_4 \cdot (NH_4)_2 \cdot SO_4$	0	—	6	$> 1{,}0 \cdot 10^{-1}$
$CdSO_4$	5	$3{,}1 \cdot 10^{-1}$	6	$1{,}6 \cdot 10^{-1}$
$ZnSO_4$	5	$3{,}5 \cdot 10^{-2}$	6	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$
$CuSO_4$	6	$2{,}0 \cdot 10^{-2}$	6	$1{,}0 \cdot 10^{-2}$
Tannin	6	$1{,}7 \cdot 10^{-3}$	0	—
$Fe_2(SO_4)_3 \cdot (NH_4)_2SO_4$	6	$1{,}3 \cdot 10^{-3}$	0	—

In einer zweiten Versuchsreihe wurden die Froschlungen 30 min mit jeweils der gleichen molaren Konzentration (M/25 = $4 \cdot 10^{-2}$ mol) behandelt. Diese Anordnung erlaubte die Beurteilung der Wirkungsintensität bei der gleichen Dosis.

Die Mittelwerte aus je 4 Versuchen sind in Abb. 1 dargestellt. Tannin und Ferri-Ionen waren wieder weitaus am wirksamsten. Der hier im

Gegensatz zur vorigen Versuchsanordnung aufgetretene geringe adstringierende Effekt beim Ferroammoniumsulfat ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf Ferri-Eisen zurückzuführen, das in den 30 min durch Oxydation entstanden war. Cadmium war in der angewandten Konzentration unwirksam. Zink war deutlich und Kupfer mehr als doppelt so wirksam. Die Wirksamkeit aller Metalle war an den in dieser Versuchsreihe benutzten Esculentenlungen geringer als bei Temporarienlungen. Die Reihenfolge der Wirksamkeit war abgesehen vom Ferroammoniumsulfat und den geringen Unterschieden beim Tannin die gleiche geblieben. Bei den

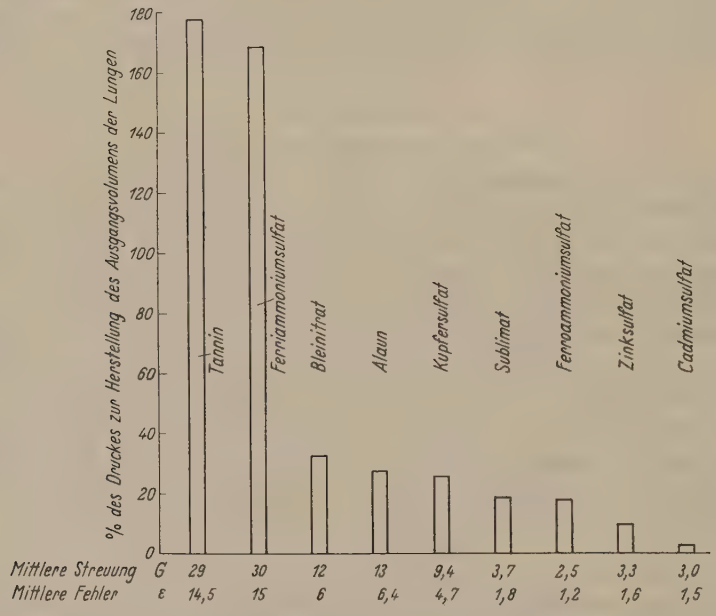


Abb. 1. Wirkungsintensität verschiedener Adstringentien in einer Konzentration von 4.10^{-2} mol/l an der Froschlunge. Die Säulen geben die prozentuale Zunahme des Druckes an, der notwendig war, die Froschlungen nach der Behandlung auf das Ausgangsvolumen auszudehnen.

großen Tanninmolekülen ist die bessere Wirksamkeit in dieser Versuchsreihe ebenfalls auf die längere Einwirkungszeit zurückzuführen.

In der gleichen Anordnung wurde die Wirkung einer 1/50 molaren Lösung in je einem Versuch geprüft. Zink und Kupfer waren hier in der gleichen Größenordnung wirksam. Sonst ergab sich kein Unterschied in der Reihenfolge. Bemerkenswert war in beiden Versuchsreihen die relativ starke Wirkung des Bleisalzes, die selbst diejenige des Aluminiumsalzes übertraf. Zinksulfat war relativ schwach wirksam, wenn auch beinahe dreimal so stark wie das chemisch so nah verwandte Cadmiumsulfat. Das Ergebnis bei dem letztgenannten Metall liegt noch im Bereich der Fehlergrenzen.

II. Bindung von Metallionen an Corneagewebe.

In Vorversuchen mit Zink- und Cadmiumsulfat wurde zunächst die Aufnahme aus Lösungen gleicher Konzentration durch verschiedene Gewichtsmengen Cornea bestimmt. Bei deren Vermehrung nahm die Gesamtmenge aufgenommenen Metalles zu; die *je g Hornhaut* adsorbierte Menge verhielt sich jedoch umgekehrt proportional: beim 10fachen Corneagewicht betrug die je g aufgenommene Menge etwa ein Fünftel. Maß-

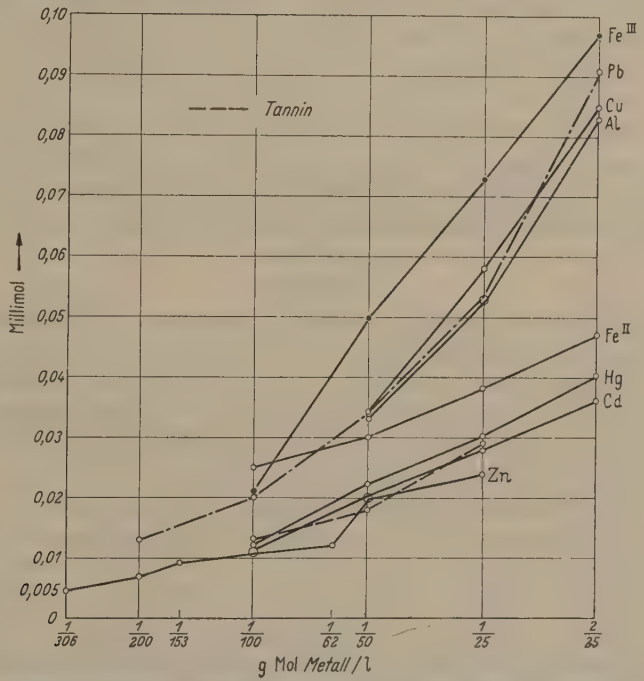


Abb. 2. Bindungsgröße verschiedener Adstringentien an Corneagewebe. Ordinate: Gebundene Menge in Millimol Metall je g Hornhaut (Feuchtgewicht). Abszisse: Angewandte Konzentration in Mol (logarithmisch aufgetragen).

gebend für die Verteilung ist bei begrenzter Zeit offenbar das Verhältnis der in Lösung befindlichen Menge Metallsalz zu der Masse des gebotenen Eiweißmaterials. Wurde die Einwirkungszeit verlängert, so wurde mehr aufgenommen. Hier war der begrenzende Faktor die Gesamtmenge des in Lösung befindlichen Metallsalzes.

Bei der Prüfung der Metalle und des Tannins in verschiedenen Konzentrationen wurde das Hornhautgewicht möglichst konstant gehalten und betrug durchschnittlich etwa 7 g; die Einwirkungsdauer wurde auf 2 Std begrenzt.

Das Ergebnis zeigt Abb. 2. Auffallend ist das Verhalten von Tannin und Zink einerseits und von Cadmium andererseits. Obwohl an der

Froschlunge die versteifende Wirkung des Tannins 190mal und des Zinks 10mal größer war als die des Cadmiums, liegt das Ausmaß der Bindung an das Corneagewebe in der gleichen Größenordnung, ja die Aufnahme von Zink ist in höheren Konzentrationen sogar noch etwas geringer. Das Verhalten des Tannins scheint nicht ganz im Einklang mit den früheren histologischen Befunden an der Froschlunge und der Augenbindehaut der Katze zu stehen. Vielleicht lohnen sich noch histologische Untersuchungen an solchen herausgeschnittenen und tanninbehandelten Hornhäuten. Sonst entspricht die Reihenfolge der Bindung der Metalle ungefähr der Reihenfolge der Wirkungsintensität an der Froschlunge. Doch tritt deutlicher als an dieser ein Zerfall der Metallsalze in zwei Gruppen zutage. Zink, Cadmium und Quecksilber einerseits, Kupfer, Blei und Aluminium andererseits zeigen untereinander sehr ähnliche, gruppenweise aber deutlich bis stark verschiedene Bindungsgrößen. Ein chemischer oder physikalisch-chemischer Zusammenhang läßt sich vorläufig nicht erkennen.

Diskussion.

Die für die meisten untersuchten Metallsalze gültige Parallelität des Ausmaßes der „adstringierenden" Wirkung und der Bindung an ein wesentlich aus Bindegewebe bestehendes überlebendes Material besteht nicht für Tannin, Zink- und Cadmiumsalz. Ihre Bindungsgröße ist übereinstimmend sehr gering, während sich ihre Wirkungsintensität an der Froschlunge erheblich unterscheidet. Hier steht das Tannin an erster Stelle. Das Ergebnis für die Hauptfrage muß also leider lauten, daß unsere Bemühungen keinen Aufschluß über die Wirkungsweise des Zinks als Adstringens erbracht haben.

Für den Vergleich mit den Befunden von E. Seiler am Hautpulver war die Berechnung der je g Trockengewicht Cornea gebundenen Metall- oder Tanninmenge notwendig. 7,6 g Feuchtgewicht der Cornea entsprach 1 g Trockengewicht. Seiler hatte außer der Bindungsgröße bei verschiedenen Konzentrationen noch diejenige Konzentration ermittelt, bei der das Adstringens quantitativ aus der Lösung niedergeschlagen war.

Aus den Daten der Tab. 2 geht hervor, daß das Hautpulver aus gleichen Konzentrationen wesentlich größere Mengen Metall aufgenommen hat als das Corneagewebe. Diese Differenzen erklären sich wohl aus den Unterschieden in der Versuchsanordnung und vor allem des Materials. Dieses war in den Versuchen von Seiler sehr viel feiner verteilt als in den unseren, bot also auf gleiches Gewicht eine viel größere Oberfläche. Überdies werden vielleicht in den Proteinen des Coriums reaktionsfähige Gruppen durch die Behandlung bei der Herstellung des Pulvers freigelegt, die im frischen Gewebe nicht gegeben sind.

Die Grenzkonzentration ist auch beim dreiwertigen Eisen sehr gering. Ferroeisen wurde an Hautpulver unter Luftabschluß und CO_2-Atmosphäre überhaupt

nicht adsorbiert. Deswegen kann ziemlich sicher angenommen werden, daß die in unseren Versuchen gefundenen Wirkungen durch oxydativ entstandenes dreiwertiges Eisen bedingt waren. Bei kurzer Einwirkungszeit war das Ferroeisen auch an der Froschlunge wirkungslos.

Eine Spezifität der Adstriktionswirkung zeichnet sich vor allem beim Tannin ab. Der quantitative Unterschied bezüglich seiner Bindung an Hornhaut und seiner Wirkung an der Froschlunge im Verhältnis zu den geprüften Metallsalzen machen es wahrscheinlich, daß die Tanninwirkung qualitativ anderer Art ist als die der Metalle. Beim Zink ist bemerkenswert, daß es in der gleichen Größenordnung gebunden wurde wie Cadmium, obwohl es an der Froschlunge um etwa eine Zehnerpotenz wirksamer war. Will man gar in Rechnung stellen, daß am Hautpulver die

Tabelle 2. *Reihenfolge verschiedener Adstringentien in bezug auf ihre Wirkungsintensität an der Froschlunge, ihre Bindungsgröße je g Trockengewicht Hornhaut und Hautpulver und die Grenzkonzentration ihrer vollständigen Bindung an Hautpulver.*

Wirkungsstärke an der Froschlunge	Bindung an der Hornhaut bei $2{,}10^{-3}$ mol		Bindung an Hautpulver [1] bei 10^{-3} mol		bei $5{,}10^{-3}$ mol		Grenzkonzentration Hautpulver g Metall/l (mol)	
Tannin ..	Fe^{III}	$3{,}8 \cdot 10^{-4}$	Cd	$3{,}6 \cdot 10^{-4}$	Cd	$17{,}4 \cdot 10^{-4}$	Tannin	$1{,}8 \cdot 10^{-7}$
Fe^{III}	Pb	$2{,}6 \cdot 10^{-4}$	Fe^{III}	$3{,}3 \cdot 10^{-4}$	Hg	$12{,}0 \cdot 10^{-4}$	Al	$1{,}3 \cdot 10^{-7}$
Pb	Cu	$2{,}6 \cdot 10^{-4}$	Al	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	Al	$9{,}4 \cdot 10^{-4}$	Pb	$0{,}53 \cdot 10^{-7}$
Al.....	Al	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	Hg	$2{,}6 \cdot 10^{-4}$	Fe^{III}	$7{,}4 \cdot 10^{-4}$	Hg	$0{,}36 \cdot 10^{-7}$
Cu	Hg	$1{,}7 \cdot 10^{-4}$	Cu	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	Pb	$5{,}8 \cdot 10^{-4}$	Zn	$0{,}31 \cdot 10^{-7}$
Hg	Cd	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	Pb	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	Cu	$5{,}1 \cdot 10^{-4}$	Cd	$0{,}22 \cdot 10^{-7}$
Zn	Zn	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	Zn	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	Zn	$4{,}4 \cdot 10^{-4}$	Fe^{III}	$0{,}12 \cdot 10^{-7}$
Cd	Tannin	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$					Cu	$0{,}08 \cdot 10^{-7}$

[1] Berechnet aus Ergebnissen von E. Seiler.

Bindung des Cadmiums wesentlich größer war als die des Zinks, so könnte man ernstliche Zweifel hegen, ob der angenommene Kausalzusammenhang zwischen Adstriktionseffekt und stofflicher Anreicherung in den Strukturen des Bindegewebes wirklich existiert.

Die von Wilbrandt, Ryser u. Witt bei der Adstriktion angenommene Vermehrung brückenartiger Bindungen zwischen Fadenmolekülen bestimmter Eiweißkörper braucht ja nicht in unmittelbarer Beziehung zu der Konzentration der wirksamen Substanz an Ort und Stelle zu stehen. Vielmehr könnten spezifische Affinitäten zwischen dem einwirkenden Agens und bestimmten Gruppen der Eiweißmoleküle maßgebend sein. Daß solche spezifischen Affinitäten, insonderheit für die Schwermetalle existieren, lehren ja viele Fälle aus dem Bereich der Enzyme. Über spezifische Bindung speziell des Zinks finden sich interessante Angaben u. a. in einer neuen Arbeit von Weitzel, Buddecke, Strecker und Roester. Recht bemerkenswert ist auch der Befund von Wilbrandt, daß

die durch Aurichlorid hervorgerufene „Härtung" von Blutkörperchen durch starke Komplexbildner mit Gold, wie Natriumcyanid oder Dimercaptopropanol (BAL), aufgehoben werden kann.

Die bereits oben angedeutete Analogie in der Beeinflussung von fibrösen Strukturen und Zelloberflächen haben offensichtlich auch Wilbrandt veranlaßt, Studien über Adstriktion in ausgedehntem Maße an Blutkörperchen auszuführen; dabei wurde allerdings für die seit Kobert vielbenutzte Gerbstoffwirkung aufgedeckt, daß sie keinen Effekt an der normalen Zelloberfläche darstellt. Vermutlich wird es notwendig sein, auch sonstige Feststellungen über die Wirkung von Adstringentien an Erythrocyten mit verbesserter Methode nachzuprüfen (Ruge und Rummel, Tuchel).

Zusammenfassung.

Untersucht wurde die versteifende („adstringierende") Wirkung von Tannin, sowie drei- und zweiwertiger Metallsalze an Froschlungen. Außerdem wurde die Bindungsgröße der gleichen Verbindungen an Corneagewebe bestimmt. Die Reihenfolge der Intensität der adstringierenden Wirkung der meisten Metallsalze entspricht etwa der Bindungsgröße an Corneagewebe. Dagegen wurden Tannin, Zink und Cadmium in gleicher Menge vom Hornhautgewebe gebunden, während sich ihre Wirkungsintensität an der Froschlunge wie 190:10:1 verhielt. Eine Sonderstellung des Zinks in der Reihe der Metalle kam nicht zum Ausdruck. Wesentliche Faktoren der Wirkungsweise von Adstringentien bleiben weiterhin unverstanden.

Literatur.

Bhattacharya, S. K.: Über adstringierende Wirkung von Schwermetallen an überlebenden Geweben. Med. Diss. F. U. Berlin 1954. — Brock, N., u. H. Druckrey: Die Wirkung von Adstringentien auf das Froschherz. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188**, 186 (1938). — Dreser, H.: Pharmakologische Studien über Silberwirkungen. Arch. internat. Pharmacodynamie **18**, 105 (1908). — Fischer, H.: Dithizon-Verfahren in der chemischen Analyse. Z. angew. Chemie **37**, 919 (1937). — Handovsky, H., u. W. Heubner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **99**, 123 (1923). — Handovsky, H., u. T. Masaki: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **100**, 257 (1923). — Heubner, W.: Klin. Wschr. **1924**, 824. — Versuche zur Deutung der Adstriktion durch Aluminiumsalze. Z. Hyg. **127**, 742 (1948). — Zur Theorie der adstringierenden Wirkung. Ther. Gegenw. **1949**, H. 3. — Heubner, W., u. E. Schreiber: Studien über Adstriktion an Froschlungen. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 340 (1937). — Jung, F., u. K. Onnen: Bindung und Wirkungen des Formaldehyds an Erythrocyten. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 179 (1955). — Komiyama, T.: Die Wirkung der Adstringentien auf die Rattenschwanzsehne. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **112**, 22 (1926). — Mehlhardt, G.: Untersuchungen über die Einwirkung von Adstringentien auf die Bindehaut des Auges. Med. Diss. Berlin 1937. — Röske, E.: Über das Verhalten der Adstringentien auf der Mundschleimhaut. Med. Diss. Berlin 1936. — Ruge, R., u. W. Rummel: Beeinflussung der Urethanhämolyse durch Schwermetalle. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 329 (1953). — Schäfer, K.-H.: Die Bestimmung des Eisens in biologischem Material, insbesondere des Nichthämoglobineisens in geringen Organmengen durch Phenanthrolin als Indicator. Biochem. Z. **304**, 417 (1940). —

Seiler, E.: Wirkung der Adstringentien. Phil. Diss. F. U. Berlin 1951. — Tuchel, J.: Zur Wirkung der Schwermetalle Aluminium, Zink, Cadmium, Mangan und Nickel auf Einzelzellen. Med. Diss. Berlin Humboldt-Universität 1948. — Weber, J. R., u. M. Rowedder (bei Wilbrandt): Helvet. physiol. Acta **7**, C64 (1949). — Weitzel, G., E. Buddecke, F.-J. Strecker und Ursula Roester: Hoppe-Seylers Z. f. physiol. Chemie **298**, 169 (1954). — Wilbrandt, W.: Wirkungen von Schwermetallen und BAL, sowie anderen Komplexbildnern auf die Zellmembran. Schweiz. med. Wschr. **1952**, 426. — Wilbrandt, W., u. H. Heimann: Die Wirkung des Tannins auf die Erythrocytenmembran. Helvet. physiol. Acta **6**, 780 (1948). — Wilbrandt, W., H. Ryser u. P. N. Witt: Die Rattenschwanzsehne als Testobjekt für adstringierende Wirkung. Helvet. physiol. Acta **8**, C 70 (1950). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 469 (1952). — Wilbrandt, W., u. H. H. Wyss: Helvet. physiol. Acta **5**, 457 (1947).

Prof. Dr. med. Wolfgang Heubner, Heidelberg, Ladenburger Straße 69.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 522—532 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der C. F. Boehringer & Soehne GmbH, Mannheim-Waldhof.

Über periphere und zentrale Wirkungen optisch isomerer Belladonna-Alkaloide*.

Von

GÜNTHER KRONEBERG.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Februar 1955.)

Bei der chemischen und pharmakologischen Entwicklung atropinähnlicher Verbindungen haben die Wirkungen auf die parasympathischen Nerven der Peripherie lange Zeit im Vordergrund des Interesses gestanden.

Durch Abwandlung des Moleküls wurde versucht, bestimmte parasympathisch blockierende Wirkungen zu verstärken oder zu modifizieren und andere, unerwünschte Nebenwirkungen zu vermindern. Auf diesem Wege wurden zahlreiche Substanzen synthetisiert, von denen als die bekanntesten das *Eumydrin* (ISSEKUTZ; CUSHNY, 1920), das *Homatropin* (LADENBURG; ISSEKUTZ; JENDRASSIK u. WILL) und das *Mydriasin* (WICHURA) genannt seien.

In den letzten Jahren hat man auch den sonstigen Wirkungen des Atropins, für die in der älteren Literatur einige Hinweise bestehen, Beachtung geschenkt, zumal sich zeigte, daß man durch chemische Substitutionen zu ganglienblockierenden und curareartigen Wirkungen gelangen kann (GYERMECK; WICK, 1951, 1953; MEYERS; FINK u. CERVONI).

Schon vor 50 Jahren hat A. CUSHNY (1904/1905) in seinen Arbeiten über die Pharmakologie optischer Isomeren festgestellt, daß *Atropin* und *Scopolamin* nicht nur die bekannten peripheren, parasympathisch blockierenden Eigenschaften besitzen, sondern auch die myoneuralen Synapsen und bestimmte Teile des Zentralnervensystems beeinflussen können. Eine genauere Analyse, die später (CUSHNY, 1920) mit optisch noch reineren Substanzen durchgeführt wurde, hat dann gezeigt, daß die hemmenden Wirkungen auf die parasympathische Erregungsübertragung besonders bei den linksdrehenden Verbindungen — l-Hyoscyamin und l-Hyoscin — ausgeprägt sind, während die rechtsdrehenden Isomeren eine vielfach schwächere Wirksamkeit aufweisen. Außerdem gibt es aber einige zentrale Wirkungen der Belladonna-Alkaloide, in denen sich die l- und d-Substanzen überhaupt nicht oder nur unwesentlich voneinander unterscheiden. So waren zur Erzeugung des curareartigen Vergiftungsbildes an Fröschen und des toxischen Krampfzustandes an Mäusen praktisch identische Dosen erforderlich, woraus CUSHNY den Schluß zog, daß die Elemente des peripheren Parasympathicus ein optisches Differenzierungsvermögen besäßen, welches bei den myoneuralen und zentralen Receptoren nicht

* Herrn Prof. Dr. med. P. WELS zum 65. Geburtstage.

vorhanden sei. Eventuell könnten auch unterschiedliche Abbau- und Eliminierungsprozesse eine Rolle spielen.

Um weitere Aufschlüsse über die in diesen Befunden angedeuteten und bisher weniger beachteten Besonderheiten in der Pharmakodynamik der Atropinkörper zu erhalten, haben wir eine quantitative Analyse einiger peripherer und zentraler Wirkungen der optischen Isomeren des Hyoscyamins und Hyoscins vorgenommen.

Methodik.

1. Blutdruck des Kaninchens. In Anlehnung an die Auswertungsmethode von Rothlin wurden an urethan-narkotisierten Kaninchen (1,3 g/kg i.v.) 0,2 γ/kg Acetylcholin in Abständen von 2 min aus einer fein graduierten Bürette i.v. infundiert und der Carotisdruck mit dem Hg-Manometer gemessen. Nach mehreren übereinstimmenden Blutdrucksenkungen wurde das zu testende Alkaloid und 1 min später erneut Acetylcholin i.v. appliziert. Da Atropin vom Kaninchen sehr schnell entgiftet wird, kann man nach Normalisierung der Acetylcholinansprechbarkeit weitere Alkaloiddosen prüfen. Wir haben für jede Substanz diejenige Dosis ermittelt, welche die Wirkung der unmittelbar folgenden Acetylcholindosis gerade aufhebt und aus den Durchschnittswerten mehrerer Versuche die Wirkungsverhältnisse zwischen l- und d-Isomeren berechnet.

2. Versuche an der Mäusepupille. Methode nach Ing, Daves u. Vajda; siehe auch Burn.

3. Toxicitätsbestimmungen an der Maus i.v. Jede Substanz wurde an Gruppen zu je 10 Mäusen in 6—7 Dosen getestet und die Absterberaten im Gaussschen Wahrscheinlichkeitsnetz eingetragen. Berechnung der DL 50 nach Litchfield u. Wilcoxon.

4. Hemmung des Morphinschwanzphänomens an der Maus. Keil u. Kluge sowie Juul haben eine Methode zur Auswertung von Morphin beschrieben, bei welcher das Schwanzphänomen der Maus als Wirkungskriterium benutzt wird. Da das Schwanzphänomen durch Atropin und Scopolamin gehemmt wird, läßt es sich bei bestimmten Fragestellungen für die quantitative Testung von Belladonna-Alkaloiden verwenden.

In unseren Versuchen erhielten Gruppen zu je 10 Mäusen 10 mg/kg Morphinhydrochlorid s.c. Diese Dosis bewirkt nach 30 min bei 100% der Tiere ein positives Straubsches Phänomen. Manche Tiere reagieren nicht immer mit der typischen steilen oder übersteilen Schwanzhaltung, sondern nur mit einer Schwanzhebung um 45—60°. Wir haben deshalb alle Mäuse als positiv bewertet, deren Schwanz etwa um 45° und mehr vom Boden gehoben wurde, was auch den Angaben von Juul entspricht. Um die Tiere beurteilen zu können, läßt man sie am besten einzeln in runden Blechgefäßen mit feinmaschigem Drahtboden laufen. Viereckige Gefäße sind ungeeignet, da sich die Mäuse in die Ecken setzen und die Ablesung erschweren. Durch gleichzeitige s.c. oder intraperitoneale Injektion der Belladonna-Alkaloide läßt sich das Schwanzphänomen hemmen, wobei der prozentuale Anteil der nicht mehr positiv reagierenden Tiere mit der Alkaloiddosis ansteigt. Auf diese Weise kommt man zu einer Ja-Nein-Aussage, die man nach Litchfield u. Wilcoxon mathematisch auswerten kann.

5. Nicotinkrämpfe an der Maus. Durch die i.v. Injektion von Nicotin werden bei verschiedenen Tierarten Krämpfe erzeugt, die durch eine Anzahl Pharmaka wie Hexamethonium, Sympathicolytica, Diparcol, Barbiturate und Antihistaminkörper gehemmt werden (Bovet u. Longo; Laurence u. Stacey; Cahen u. Mitarb.; Langecker, Schümann u. Junkmann).

In unseren Versuchen an Mäusen erhielten wir nach i.v. Injektion von 0,45 mg/kg Nicotin (auf Base berechnet), bei 100% der Tiere das typische Krampfstadium. Diese Dosis wurde deshalb als „sichere Krampfdosis" benutzt. Gruppen zu 10 Mäusen erhielten zunächst das jeweilige Belladonna-Alkaloid in ansteigenden Dosen s.c. injiziert. 20 min später erfolgte die i.v. Nicotininjektion. Durch Ermittlung der nicht mehr positiv reagierenden Tiere wurden prozentuale Hemmwerte erhalten, die eine Errechnung der mittleren Schutzdosis (ED 50) erlaubten.

6. Versuche am Froschrectus: Methode nach Burn.

Präparate: Wegen der Racemisierungsgefahr wurden sämtliche Versuchslösungen an den einzelnen Versuchstagen frisch hergestellt und bei p_H 6—6,5 gehalten. Außerdem wurde die optische Drehung der Lösungen wiederholt kontrolliert.

1. *l-Hyoscyamin.* Hyoscyamin puriss. cryst. Erg. Bd. DAB 6, Merck.

2. *l-Hyoscin.* l-Scopolaminhydrobromid „Merck" DAB 6.

$$[\alpha]_D^{20°} = -25{,}05°.$$

Die beiden optischen Isomeren d-Hyoscyamin und d-Hyoscin wurden in den chemischen Laboratorien der C. F. Boehringer & Soehne GmbH von den Herren Dr. Kraus und Dr. Berger hergestellt, denen ich auch die nachfolgenden chemischen Angaben verdanke.

3. *d-Hyoscyamin.*

$[\alpha]_D^{20°} = +19{,}6°$ (Base in Alkohol),

$[\alpha]_D^{20°}$ der Camphersulfosäureverbindung $= +26{,}7°$.

Für die Versuche wurde das Sulfat benutzt.

4. *d-Hyoscin.*

$[\alpha]_D^{20°}$ der Bromcamphersulfosäureverbindung $= +59{,}1°$.

$[\alpha]_D^{20°}$ des d-Hyoscin-hydrobromids in Wasser $= +23{,}4°$.

Da die verschiedenen Autoren für diese Substanz Drehwerte zwischen +25 bis +26,3 angeben, könnte unsere Substanz im ungünstigsten Falle durch 4—5% der l-Isomeren verunreinigt gewesen sein. Für die Versuche benutzten wir das d-Hyoscinchlorhydrat.

5. Atropin. sulfuricum „Merck",
6. Nicotinbase (Schuchardt),
7. Carbaminoylcholin („Doryl" „Merck"),
8. Histamin-dihydrochlorid,
9. Morphin-hydrochlorid.

Alle Dosierungsangaben der Belladonna-Alkaloide beziehen sich auf die freien Basen.

Versuche.

1. Wirkung auf die Mäusepupille. Ein Vergleich von l- und d-Hyoscyamin, Atropin sowie l- und d-Hyoscin an der Mäusepupille führte zur Aufstellung der in Abb. 1 wiedergegebenen Dosiswirkungsgeraden. Entsprechend den alten Angaben von Cushny wirken die d-Substanzen wesentlich schwächer als ihre linksdrehenden Isomeren. Bei dem Versuch, das genaue Wirkungsverhältnis zwischen l- und d-Substanz aufzusuchen, ergibt sich allerdings die Schwierigkeit, daß infolge der verschiedenen Steilheit der Kurven recht verschiedene Wirkungsverhältnisse aufgestellt werden können, je nach den Punkten, die man zum Vergleich heranzieht. Der Kurvenverlauf der schwach wirksamen d-Substanzen ist übereinstimmend flacher als bei den stark wirksamen -Isomeren.

Um einen Anhaltspunkt für die Wirkungsverhältnisse zu bekommen, haben wir die äquivalenten Dosen des mittleren Wirkungsbereichs gegenübergestellt (Tab. 1).

Tabelle 1. *Die Beeinflussung der Pupillenweite der Maus durch verschiedene optisch-isomere Belladonna-Alkaloide.* Pupillenerweiterung um das Vierfache des normalen Wertes (von 5 auf 20 Skalenanteile).

Substanz	γ/20 g Tier s.c.	Relative Wirkungsstärke	Wirkungsverhältnis
d-Hyoscyamin	120	1	1:107
l-Hyoscyamin	1,12	107	
Atropin	3,0	40	
d-Hyoscin	2,8	43	1:14
l-Hyoscin	0,2	600	

Als Normalwert wurde eine Pupillenweite von 5,4 ($\pm$0,18) Skalenteilen des Ocularmikrometers zugrunde gelegt (Mittelwert von 90 Mäusen).

Ein Vergleich der relativen Wirkungsstärke zeigt, daß l-Hyoscin die weitaus stärkste Substanz ist. Am schwächsten wirkt d-Hyoscyamin.

Die überwiegende Zahl der bereits bekannten Untersuchungen über die Wirkungsstärke der Atropinkörper bezieht sich auf den Vergleich

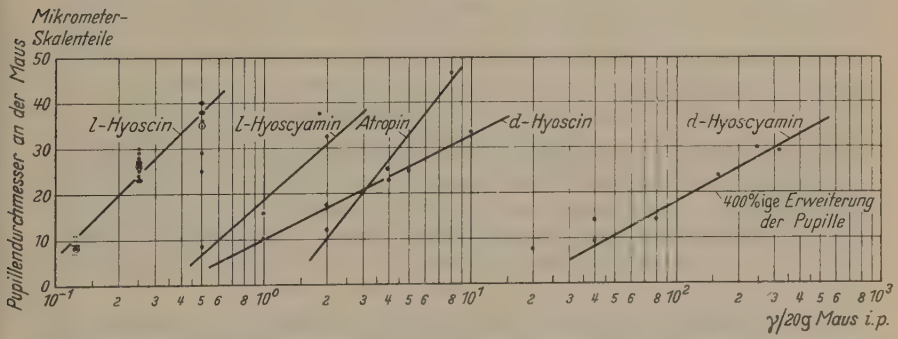


Abb. 1. Pupillendurchmesser der Maus nach l- und d-Hyoscyamin, l- und d-Hyoscin und Atropin intraperitoneal. Pupillenweite von 90 Normalmäusen = 5,4 ($\pm$0,18) Skalenteile.

zwischen l-Hyoscyamin und Atropin. Die Wirkung des l-Hyoscyamins war in den meisten Fällen und an verschiedenen Testobjekten ungefähr doppelt so stark wie die Wirkung des Atropins (Cushny, 1904; Exler u. Niekerk; Pulewka, Nyman). Bei den in Tab. 1 aufgeführten äquivalenten Dosen beträgt das Wirkungsverhältnis l-Hyoscyamin:Atropin = 1:2,65, d. h. Atropin ist in diesem Dosierungsbereich etwas weniger als halb so wirksam wie l-Hyoscyamin. Aus dem Kurvenverlauf (Abb. 1) ist aber unschwer zu erkennen, daß man in höheren Dosierungsbereichen auch ein Verhältnis von genau 1:2 erhalten kann. Die schwankenden Angaben der verschiedenen Untersucher könnten also durch Vergleiche

in unterschiedlichen Dosenbereichen erklärt werden, insbesondere wenn nur einzelne Dosen, d. h. jeweils ein Punkt der Kurve verglichen wurden.

Fernerhin muß bei der Gegenüberstellung von l-Hyoscyamin und d-Hyoscyamin der Richtungsunterschied der Kurven berücksichtigt werden. Je nach der Lage der verglichenen Punkte erhält man Wirkungsverhältnisse zwischen 1:80 und 1:200. In Cushnys Versuchen an der Speicheldrüse war l-Hyoscyamin ungefähr 40mal wirksamer als die rechtsdrehende Verbindung.

2. Versuche am Kaninchenblutdruck. Die d- und l-Substanz wurde unter Einschaltung einer längeren Pause jeweils am selben Tier verglichen. Die Wirkungsverhältnisse sind in Tab. 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. *Hemmung der Acetylcholinwirkung am Kaninchenblutdruck durch Hyoscyamin und Hyoscin.* 0,2 γ/kg Acetylcholin i.v.

Verglichene Substanzen	Wirkungsverhältnis	Anzahl der Versuche
l-Hyoscyamin:d-Hyoscyamin	16:1 bis 33:1	7
l-Hyoscin:d-Hyoscin	15:1 bis 20:1	6

Das von uns gewählte Kriterium der einmaligen völligen Aufhebung der Acetylcholinwirkung berücksichtigt allerdings nicht die *Dauer* der Wirkung, die Rothlin zur quantitativen Differenzierung zwischen Atropin und Belladonna-Gesamtalkaloiden benutzt hat. Der Versuch, auch dieses zeitliche Kriterium einzubeziehen, ergab jedoch einen quantitativ schwer zu beurteilenden Unterschied. Bei den l-Substanzen war die zur Aufhebung der Acetylcholinwirkung notwendige Dosis schon nach den nächstfolgenden Acetylcholininjektionen abgeklungen, während die entsprechende Wirkung der d-Isomeren wesentlich länger, in manchen Versuchen über 1 Std anhielt. Nähme man die *Wirkungsdauer* der Isomeren als Kriterium, so würde man wahrscheinlich zu anderen Wirkungsverhältnissen kommen. Vielleicht spielen hier Eliminierungsfaktoren eine Rolle, denn wie v. Oettingen u. Marshall gezeigt haben, wird l-Hyoscyamin durch Kaninchenserum sehr viel schneller zerstört als d-Hyoscyamin.

3. Toxicitätsversuche an der Maus. Während bei Verwendung kleiner Atropindosen die peripheren parasymphatisch blockierenden Wirkungen im Vordergrund stehen, wird die akute Intoxikation von überwiegend zentralen Symptomen beherrscht, wobei besonders die verstärkte motorische Erregung, die sich schließlich zu Krämpfen steigert, ins Auge fällt. Sofern diese Intoxikationssymptome ausschließlich auf der peripheren parasympathisch blockierenden Atropinwirkung beruhten und insbesondere nur quantitative Faktoren eine Rolle spielten, müßte der in seinen peripheren Wirkungen vielfach schwächere rechtsdrehende Anteil auch toxikologisch keine große Bedeutung besitzen. Die Toxicität des Atropins müßte dann fast ausschließlich auf den Gehalt an l-Hyoscyamin zurückgeführt werden können, d. h. Atropin müßte etwa nur halb so toxisch sein wie l-Hyoscyamin.

Daß dies keineswegs der Fall ist, zeigen die in Tab. 3 zusammengestellten Ergebnisse.

Atropin ist also noch etwas toxischer als l-Hyoscyamin, so daß die zur Hälfte im Atropin enthaltene d-Komponente auf keinen Fall weniger toxisch als die l-Substanz sein kann; sie ist vielmehr noch etwas giftiger als l-Hyoscyamin, wie der aufgeführte Doppelversuch veranschaulicht.

Tabelle 3. *Toxicität optisch isomerer Belladonna-Alkaloide an der Maus intravenös.* Jede Substanz wurde in 6—7 Dosen an 60—70 Mäusen getestet. Zahlen in Klammern = Fehlerfaktor.

Substanz auf Base berechnet	DL 50 mg/kg i.v.	
Atropin	78,5	($\overset{\times}{:}$ 1,05)
l-Hyoscyamin	97,5	($\overset{\times}{:}$ 1,05)
d-Hyoscyamin	60,7	($\overset{\times}{:}$ 1,06)
	* 64,7	($\overset{\times}{:}$ 1,10)
l-Hyoscin	198,1	($\overset{\times}{:}$ 1,06)
d-Hyoscin	153,2	($\overset{\times}{:}$ 1,07)
	* 143,0	($\overset{\times}{:}$ 1,15)

* Wiederholungsversuche an je 70 Tieren.

In prinzipiell gleicher Richtung liegen die Ergebnisse mit d- und l-Hyoscin. Beide Substanzen zeigen eine fast übereinstimmende Toxicität und sind weniger giftig als die Atropinkörper.

Der periphere Wirkungsunterschied der optischen Isomeren geht demnach nicht mit einer entsprechend verschiedenen Toxicität einher.

4. Quantitative Vergleiche am Morphinschwanzphänomen der Maus. Das zuerst von Straub beobachtete Schwanzphänomen der Maus gilt nach übereinstimmender Ansicht zahlreicher Untersucher als Zeichen einer zentralen Morphinwirkung. Ob es sich hierbei um eine von der Medulla ausgehende und über die Nn. pelvici geleitete Erregung, wie v. Leersum annimmt, oder um eine Stimulierung bzw. Hemmung bestimmter Teile des Sacralmarkes handelt (Heinekamp; Pulewka, 1927), läßt sich nicht definitiv entscheiden, doch sprechen die verstärkte Erregbarkeit spinaler Zentren, die Steigerung der Strychninempfindlichkeit durch Morphin sowie die gleichzeitige Tonuserhöhung von Analmuskulatur und Perinealmuskulatur eher im letzten Sinne.

Zur quantitativen Auswertung von Morphinlösungen haben Keil u. Kluge das Schwanzphänomen erstmalig benutzt und dabei auf die Hemmwirkung des Scopolamins hingewiesen. Später hat Juul diesen Befund bestätigt und den Antagonismus auch für Atropin beschrieben.

Auf Grund dieser Beobachtungen haben wir die optischen Isomeren am Schwanzphänomen der Maus quantitativ untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 zusammengestellt.

Auch in diesem Test bestehen zwischen den rechts- und linksdrehenden Verbindungen keine wesentlichen Unterschiede. Die geringen

Differenzen sind nicht signifikant. Die beiden Hyoscine sind wesentlich wirksamer als die Hyoscyamine, was auch den Erfahrungen von Juul mit Atropin und Scopolamin entspricht. Auch die Versuche mit Atropin ergaben nur geringe Abweichungen, die wohl auf die größere Streuung zurückzuführen sind.

Tabelle 4. *Hemmung des Morphinschwanzphänomens der Maus durch l-Hyoscyamin, d-Hyoscyamin, l-Hyoscin, d-Hyoscin und Atropin.* Mittlere Effektivdosis (ED 50) in mg/kg. Zahlen in Klammern = 2 Sigma. Morphindosis 10 mg/kg s.c. Gleichzeitige s.c. Injektion der Belladonna-Alkaloide. Ablesung 30 min nach Injektion.

Substanz	ED 50 mg/kg	Tierzahl
l-Hyoscyamin	5,3 (4,3 — 6,5)	50
d-Hyoscyamin	7,5 (5,15—11,0)	40
l-Hyoscin	0,6 (0,33— 1,08)	50
d-Hyoscin	1,5 (0,78— 2,9)	60
Atropin	12,0 (7,3 —19,9)	50

Der bei den peripheren parasympathicolytischen Wirkungen bestehende Unterschied von 1—2 Zehnerpotenzen ist demnach bei der Hemmung des durch Morphin erzeugten speziellen Erregungszustandes an der Maus nicht mehr vorhanden.

5. Die Hemmung der Nicotinkrämpfe durch Hyoscyamin, Hyoscin und Atropin an der Maus. Der Ursprung der Nicotinkrämpfe wird seit den Untersuchungen Langleys in die motorischen Ganglien verschiedener Hirnabschnitte und des Rückenmarks verlegt. Auf Grund der Ergebnisse von Bovet u. Longo, die eine Hemmung der Nicotinkrämpfe durch verschiedene Antiparkinsonmittel nachweisen konnten, ist anzunehmen, daß die motorischen Zentren des Stammhirns in erster Linie betroffen sind. Da die Belladonna-Alkaloide bekanntlich zur Behandlung von stammhirnbedingten Dyskinesen benutzt werden, lag es nahe, die Wirkungsstärke der optischen Isomeren an diesem vom Nicotin hervorgerufenen zentralen Erregungszustand zu vergleichen.

Als Versuchstiere dienten Mäuse, die nach i.v. Injektion von Nicotin mit einem kurzdauernden klonisch-tonischen Krampfstadium reagieren. In zahlreichen Kontrollversuchen haben wir verschiedene Nicotindosen von 0,2—0,6 mg/kg getestet. Mit 0,3 mg/kg reagierten ungefähr 90—100% der Tiere positiv. Die Krämpfe waren teilweise jedoch nur angedeutet und eine Schutzwirkung nicht einwandfrei zu differenzieren. Erst mit 0,45 mg/kg zeigten sämtliche Kontrolltiere (30) das ungefähr 2 min anhaltende schwere Krampfbild. Dosen von 0,5 bis 0,6 mg/kg waren bei einem Teil der Tiere letal, deshalb wurde die Dosis 0,45 mg/kg i.v. gewählt.

In Tab. 5 sind die mittleren Schutzdosen der verschiedenen Isomeren zusammengestellt.

Wie in den vorangehenden Versuchen mit Morphin, lassen sich auch bei der Hemmung der Nicotinkrämpfe keine verwertbaren Unterschiede zwischen d- und l-Substanzen erkennen. Die geringen Differenzen liegen sämtlich im Fehlerbereich. Da die Dosiswirkungskurven flach verlaufen und die Werte mit einer größeren Streuung behaftet sind, lassen sich

keine Aussagen über eventuell vorliegende kleinere Unterschiede machen. Diese Einschränkung wird aber völlig belanglos, wenn man die vielfach größeren Differenzen bei den peripheren Wirkungen berücksichtigt.

Tabelle 5. *Hemmung der Nicotinkrämpfe an der Maus durch l- und d-Hyoscyamin, l- und d-Hyoscin und Atropin.* Mittlere Effektivdosen (ED 50) in γ/20 g Maus. 100%ige Krampfdosis 0,45 mg/kg Nicotin i.v. (auf Base berechnet, Lösung p_H 7,4). Belladonna-Alkaloide 30 min vor Nicotin s.c.

Substanz	ED 50 in γ/20 g Maus	Tierzahl	Wirkungsverhältnis
l-Hyoscyamin	128 (85—192)	40	1:1,75 (P>0,05)
d-Hyoscyamin	224 (136—370)	50	
l-Hyoscin	148 (93—237)	40	1:1,25 (P>0,05)
d-Hyoscin	185 (119—287)	50	
Atropin	120 (64—226)	40	

6. Wirkung von d- und l-Hyoscyamin am Froschrectus. Um einen Anhaltspunkt über die curareartige Wirkung der Hyoscyamine zu erhalten, haben wir die beiden Isomeren am Froschrectus verglichen. Wie aus Abb. 2 zu ersehen ist, wird die Acetylcholinkontraktur von d- und l-Hyoscyamin in gleicher Stärke gehemmt, so daß sich die toxikologischen Beobachtungen Cushnys auch am Muskel selbst bestätigen lassen. Die sehr hohen Alkaloiddosen zeigen allerdings, wie wenig spezifisch diese Wirkung ist. Darauf wiesen auch orientierende Versuche an Ratten hin, bei denen selbst durch toxische Atropindosen kein neuromuskulärer Block erzeugt werden konnte. Damit wird der eventuelle Einwand entkräftet, daß die Hemmung der Nicotinkrämpfe und des Morphinschwanzphänomens an der Maus durch eine curareartige Wirkung der Belladonna-Alkaloide zu erklären sei.

Abb. 2. Wirkung von d- und l-Hyoscyamin am Froschrectus. Kontraktur mit Acetylcholin 1×10^{-4}. Einwirkungszeit des Alkaloids 1 min. Zimmertemperatur. l- und d-Hyoscyamin sind wirkungsgleich.

Besprechung der Ergebnisse.

Ausgangspunkt für unsere Untersuchungen war die schon vielfach gemachte Beobachtung, daß sich Atropin und l-Hyoscyamin in ihrer Toxicität nicht unterscheiden. Diese Feststellung berechtigt zu dem Schluß, daß die im Atropin zur Hälfte enthaltene rechtsdrehende Verbindung toxikologisch gleichwertig sein muß. Da andererseits erwiesen ist, daß d-Hyoscyamin in seinen peripheren parasympathisch blockierenden Wirkungen um ein Vielfaches schwächer ist als l-Hyoscyamin, kann die Intoxikation als solche nicht die alleinige Folge einer in extenso gesteigerten peripheren Parasympathicusblockade sein. — Die Atropinvergiftung wird von überwiegend zentralen Erregungssymptomen beherrscht. Infolgedessen weist die toxikologische Gleichwertigkeit von l-Hyoscyamin und d-Hyoscyamin darauf hin, daß die *zentralen* Atropinwirkungen eine besondere, mit den peripheren Wirkungen nicht parallelgehende Wirkungsqualität darstellen. Die wesentliche und auch eventuell praktisch bedeutungsvolle Frage ist nun, ob es sich hierbei um ein rein toxikologisches Phänomen handelt, oder ob eine zentrale Wirkungskomponente auch in niedrigeren Dosierungsbereichen nachgewiesen werden kann. Die Schwierigkeit liegt naturgemäß in der Abgrenzung von der gleichzeitig bestehenden peripheren Wirkung. Durch den Vergleich zwischen l- und d-Substanz wird diese Schwierigkeit insofern verringert, als *bei gleicher Wirkungsstärke* von l- und d-Verbindung eine ursächliche Beteiligung der peripheren Komponente weitgehend ausgeschlossen werden kann.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß die d- und l-Verbindungen außer ihrer nahezu übereinstimmenden Giftigkeit auch in der Hemmung der durch Morphin oder Nicotin hervorgerufenen Erregungszustände an der Maus gleichwertig sind.

Es scheint zunächst bemerkenswert, daß diese zentrale Erregungshemmung das Gegenteil der toxikologischen Eigenwirkung darstellt und somit ein qualitativer Gegensatz zwischen den toxischen und den „therapeutischen" Wirkungen besteht. Derartige Phänomene sind ja bei zahlreichen Stoffen geläufig.

Die in unserem Spezialfall als „therapeutisch" zu bezeichnenden Dosen liegen, wenn man beispielsweise die periphere Wirkung an der Pupille mit den Wirkungen auf das Morphinschwanzphänomen oder die Nicotinkrämpfe vergleicht, in recht verschiedenen Bereichen: Die ED 50 betrug am Schwanzphänomen für l- und d-Hyoscyamin etwa 5—8 mg/kg. Diese „therapeutische" Dosis liegt, wie man aus Abb. 1 unschwer ablesen kann, in einem Bereich, in welchem sich nach d-Hyoscyamin die ersten meßbaren Pupillenerweiterungen zeigen. l-Hyoscyamin hingegen, dessen pupillenwirksame Dosen bereits bei 0,02—0,04 mg/kg liegen, hat seine maximal mögliche Pupillenwirkung bereits um ein Vielfaches

überschritten. Sofern man die zentrale Hyoscyaminwirkung therapeutisch benutzen wollte, wäre die d-Verbindung demnach wesentlich günstiger als die l-Substanz.

Wenn es auch nahe liegt, den an der Maus gezeigten Nicotinantagonismus der Belladonna-Alkaloide mit ihrer Antiparkinsonwirkung in Verbindung zu bringen und die relativ starke Wirkung der rechtsdrehenden Isomeren zur Erklärung der günstigeren Wirkung natürlicher Alkaloidgemische heranzuziehen, so sollte man diese an der Maus beobachteten Antagonismen nicht ohne Einschränkungen verallgemeinern. Denn allein die Tatsache, daß Morphin und Scopolamin am Menschen synergistisch wirken, kennzeichnet den relativen Wert derartiger Befunde.

Die Rolle der Tierspecies zeigt sich auch in den Ergebnissen von Bovet u. Longo, die mit Atropin am Kaninchen keine Hemmung des Nicotintremors nachweisen konnten. In Kenntnis dieser negativen Befunde sind wir in unseren Mäuseversuchen bis zur subletalen Nicotindosis von 0,45 mg/kg gegangen, um methodische Fehler, die infolge einer nicht ausreichenden Krampfdosis möglich wären, auszuschalten. Wir hatten in vorangehenden Versuchsreihen mit 0,3 und 0,35 mg/kg Nicotin prinzipiell gleiche Resultate erhalten.

Die Feststellung, daß sich die optischen Isomeren der Belladonna-Alkaloide in ihrer Wirkung auf zentral-nervöse Strukturen nicht unterscheiden, hingegen die periphere parasympathische Erregungsübertragung in viel stärkerem Maße von der l-Verbindung gehemmt wird, läßt verschiedenartige, an die stereoisomere Konfiguration gebundene *Wirkungsmechanismen* vermuten. Entsprechend den auf Pasteur zurückgehenden Vorstellungen soll die optisch-spezifische Wirkung einer chemischen Verbindung auf der Bindung mit einer optisch ebenfalls spezifisch aufgebauten Receptorsubstanz beruhen. Wenn, wie im Falle der *zentralen Alkaloidwirkung*, 2 Isomere quantitativ und qualitativ identisch sind, müßte ihr Substrat entweder optisch nicht spezifisch oder aber der Bindungsvorgang keine chemische, sondern eine *physikalisch-chemische* Reaktion sein. Dies wird um so wahrscheinlicher, als auch verschiedene Lokalanaesthetica und Narkotica, deren physikalisch-chemischer Wirkungsmechanismus bekannt ist, keinerlei optisch spezifische Wirkungen besitzen (Viditz, Butler, King).

Demgegenüber müßte das Substrat der *peripheren Wirkung* auf eine optisch spezifische Bindung eingestellt und prädisponiert sein und die Reaktion mit dem optisch aktiven Alkaloid auf einem *chemischen* Vorgang beruhen.

Zusammenfassung.

1. An der *Mäusepupille* und in der Hemmung der *Acetylcholinwirkung* am *Kaninchenblutdruck* sind l-Hyoscyamin und l-Hyoscin vielfach stärker wirksam als ihre rechtsdrehenden Isomeren.

2. Entgegen dieser unterschiedlichen *peripheren* Wirkung bestehen in der *Toxicität* keine wesentlichen Unterschiede. d-Hyoscyamin ist sogar noch etwas toxischer als l-Hyoscyamin.

3. Das durch *Morphin* an der Maus hervorgerufene *Schwanzphänomen*, das als Ausdruck eines zentralen Erregungszustandes gilt, wird durch Belladonna-Alkaloide gehemmt. Dabei besitzen die d- und l-Verbindungen die gleiche Wirkungsstärke. — Die beiden Hyoscine sind 5—10mal wirksamer als die Hyoscyamine.

4. Die Nicotinkrämpfe der Maus werden durch d-Hyoscyamin und d-Hyoscin ebenso stark gehemmt wie durch die laevo-Verbindungen.

5. Am Froschrectus läßt sich mit hohen Alkaloiddosen eine curareartige Wirkung des Hyoscyamins nachweisen, die bei beiden Isomeren in gleicher Stärke vorhanden ist. Diese Wirkung spielt aber *in vivo* keine Rolle.

6. Die experimentellen Befunde weisen darauf hin, daß es *zentrale Wirkungen der Belladonna-Alkaloide gibt, die sich von den peripheren parasympathicolytischen Wirkungen qualitativ unterscheiden.* Sie treten *nicht erst in toxischen Dosierungsbereichen* auf, sondern lassen sich durch geeignete Differenzierungsmethoden auch bei weit *niedrigeren Alkaloiddosen* nachweisen. d-Hyoscyamin hat in Dosen, welche einen gerade meßbaren peripheren Effekt zeigen, bereits eine zentrale Wirkung.

Literatur.

Bovet, D., and V. G. Longo: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **102**, 22 (1951). — Burn, J. H.: Practical Pharmacology, Oxford 1952. — Biological Standardization, Oxford 1950. — Butler, Th.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **69**, 229 (1940). — Cahen, R. L., u. Mitarb.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **107**, 424 (1953). — Cushny, A. R.: J. of Pharmacol. **15**, 105 (1920). — J. of Physiol. **30**, 176 (1904); —, and A. R. Peebles ibd. **32**, 501 (1904—1905). — Exler and Niekerk: J. of Pharmacol. **36**, 411 (1929). — Fink, L. D., and P. Cervoni: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 372 (1953). — Gyermek, L.: Acta physiol. (Budapest) **2**, 511 (1951). — Heinekamp: Zit. n. T. Sollmann, Manual of Pharmacol., Philadelphia 1951. — Ing, Dawes and Wajda: Zit. n. J. H. Burn, Biological Standardization, Oxford 1950. — Issekutz, B., v.: Z. exper. Path. u. Ther. **19**, 99 (1917). — Jendrassik, L., u. G. Will: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **153**, 94 (1930). — Juul, A.: Arch. internat. Pharmacodynamie **62**, 69 (1939). — Keil, W., u. A. Kluge: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **174**, 493 (1934). — King, H.: J. Chem. Soc. (Lond.) **1924**, 41. — Ladenburg, A.: Liebigs Ann. **217**, 74 (1883). — Langecker, H., H. J. Schümann u. K. Junkmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 130 (1953). — Laurence, D. R., and R. S. Stacey: Brit. J. Pharmacol. **8**, 62 (1953). — Leersum, E. G. v.: Zit. n. Sollmann, T., Manual of Pharmacol., Philadelphia 1951. — Litchfield, J. T., and F. Wilcoxon: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **98**, 99 (1949). — Meyers, F. H., and B. E. Abreu: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **104**, 387 (1952). — Nymann, E.: Acta physiol. scand. (Stockh.) Suppl. **10**, Vol. 3 (1942). — Oettingen, W. F. v., and J. H. Marshall: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **50**, 15 (1934). — Pulewka, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 307 (1932); **123**, 259 (1927). — Rothlin, E.: Pflügers Arch. **206**, 614 (1924). — Viditz, T.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **172**, 668 (1933). — Wick, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 485 (1951). — Wick, H., u. G. Peters: Klin. Wschr. **1953**, 910. — Wichura, W.: Z. exper. Path. u. Ther. **20**, 1 (1919).

Dr. Günther Kroneberg, Pharmakolog. Laboratorium d. C. F. Boehringer & Soehne GmbH, Mannheim-Waldhof.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 533—540 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky).

Eine Methode zur Beurteilung des Nierengefäßtonus bei Mäusen.

Das Verhalten der Nierengefäße der Maus in den verschiedenen Stadien der Äthernarkose.

Von
P. Jungblut und G. Kuschinsky.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Dezember 1954.)

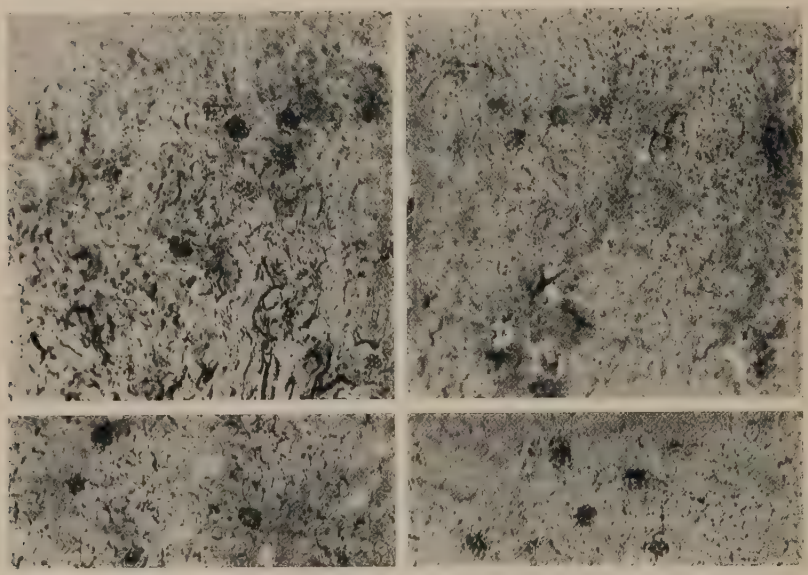
E. und J. Frey untersuchten in zahlreichen Arbeiten Zusammenhänge zwischen Blutverteilung und Nierenfunktion. Sie verwendeten zuerst die Methode der Tuscheinjektion, später die Benzidinfärbung der Erythrocyten.

Eine Reihe von Nachuntersuchern (Höpker u. Meesen, Kuhlgatz, u. a.) benutzte die gleichen Verfahren. Die experimentellen Grundlagen für ihre Auffassung von einem juxtamedullären Kurzschluß der Nierendurchblutung erhielten Trueta, Barcley, Daniel, Franklin u. Prichard, außer mit intravital durchgeführten Gefäßradiographien, ebenfalls mit der Verteilung von injizierter Tusche oder Farbstoffen. Von den Methoden zur Erfassung der Blutverteilung in der Niere erscheint die Benzidinfärbung der Erythrocyten als die schonendste. Sie benötigt keinen intravitalen Eingriff (Tusche- oder Farbstoffinjektionen), der als solcher verfälschend auf das Versuchsergebnis wirken könnte. In Betracht zu ziehen sind allerdings auch in diesem Falle mögliche intrarenale Blutverschiebungen bzw. das Auslaufen des Blutes aus einem nicht rechtzeitig unterbundenen Organ.

Um das Auslaufen des Blutes zu vermeiden, legte G. Kuhlgatz einen Tag vor dem Versuch eine Seidenschlinge um einen Nierenstiel von Ratten, die in einem bestimmten Zeitpunkt des Versuches zugezogen wurde. Die Möglichkeit von Blutverschiebungen in der unterbundenen Niere schloß er durch den Vergleich der Verteilung von Erythrocyten und vor dem Tod des Versuchstieres injiziertem Trypaflavin aus.

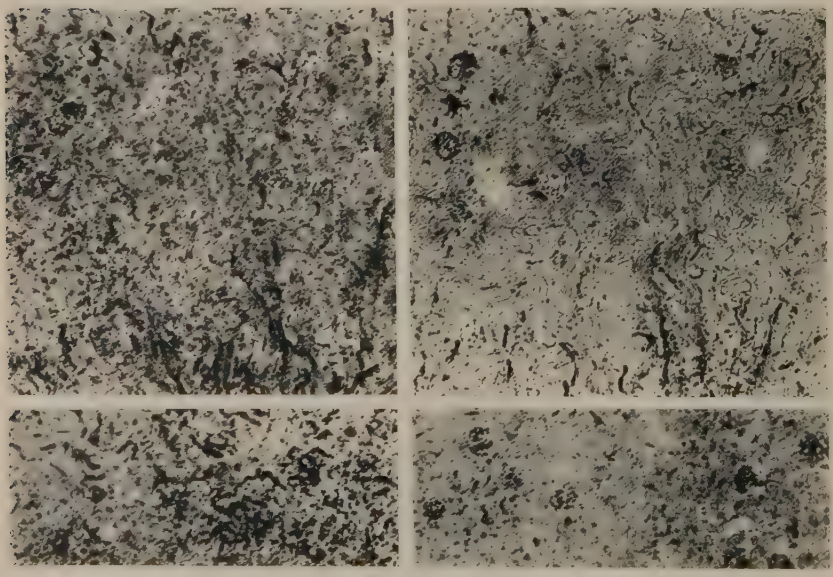
Unter Verwendung der Unterbindungsmethode von Kuhlgatz versuchten wir, durch den Vergleich der Blutverteilung in unterbundenen und nichtunterbundenen Nieren eine Aussage über den Tonuszustand der Nierengefäße zu erhalten. Als erstes Objekt der Untersuchung wählten wir die Nieren von Mäusen in verschiedenen Stadien der Äthernarkose.

Legende zu den Abb. 1—4. Abb. 1a, 2a, 3a, 4a — unterbundene linke Nieren. Abb. 1b 2b, 3b, 4b — nichtunterbundene rechte Nieren. Obere Bilder Rindensektoren, untere Bilder Rindentangentialschnitte.



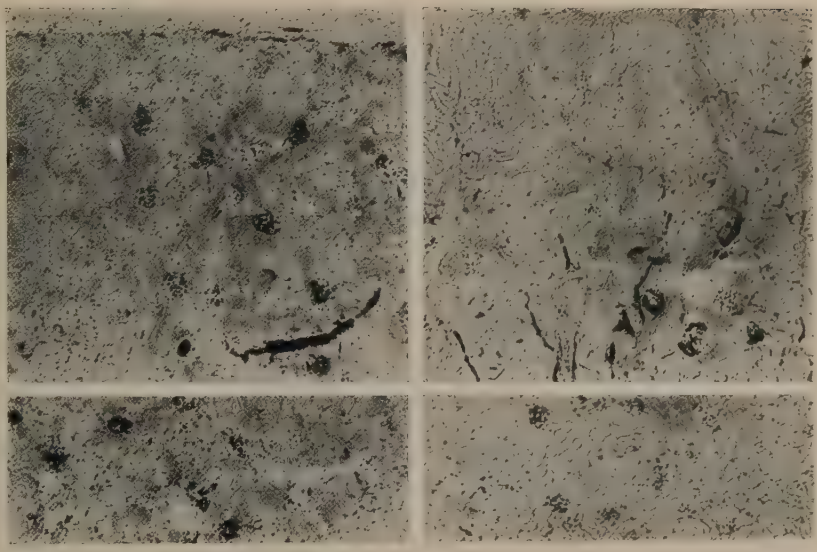
a *b*

Abb. 1. Kontrolle.



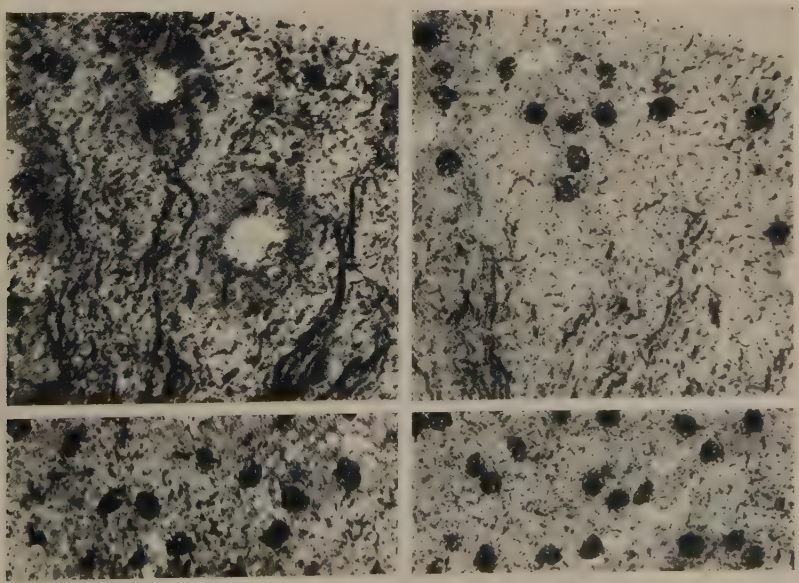
a *b*

Abb. 2. Blutverteilungstyp 1 im Excitations- oder Toleranzstadium der Äthernarkose.



a *b*

Abb. 3. Blutverteilungstyp 2 im Excitations- oder Toleranzstadium der Äthernarkose.



a *b*

Abb. 4. Asphyxiestadium der Äthernarkose.

Methodik.

Männlichen Mäusen eines Inzuchtstammes im Gewicht von 20—25 g wurde 4—7 Tage vor dem Versuch in Äthernarkose ein Perlonfaden um den linken Nierenstiel geschlungen, dessen Enden durch Muskulatur und Rückenhaut nach außen geführt und dort mit kleinen Metallperlen fixiert wurden. Postoperativ erhielten die Tiere 10—20000 IE Depotpenicillin[1] i.m. Die Ätharnarkose wurde in einem 1,5 l Narkoseglas bei Ätherkonzentrationen von etwa 15 Vol.% durchgeführt. Als Kriterium diente nicht die Dauer, sondern das klinische Stadium der Narkose. Wir unterschieden 1. Excitation, mit unvollständiger Analgesie und Spontanbewegungen, 2. Toleranz, mit Analgesie, Bewegungslosigkeit und frequenter Atmung und 3. Asphyxie mit prämortaler Schnappatmung. Im jeweils zu untersuchenden Stadium wurde die Perlonschlinge um den linken Nierenstiel zugezogen und das Tier unmittelbar darauf (2 sec) mit einer Doppelschere gleichzeitig zwischen Zwerchfell und Nieren durchgetrennt und dekapitiert. In einer zweiten Versuchsreihe durchtrennten und dekapitierten wir Mäuse ohne Unterbindung des linken Nierenstiels in Äthernarkose. Zur Kontrolle verwendeten wir nichtnarkotisierte, sorgfältig an die Manipulationen gewöhnte, männliche Mäuse mit und ohne Unterbindung des linken Nierenstiels. Die Nieren wurden sofort nach dem Tod des Versuchstieres entnommen. Die Aufarbeitung erfolgte in 40 μ Seriengefrierschnitten nach der Methode von Slonimski und Cunge: Fixierung der Organe 20 Std in einer Lösung von 4% Formaldehyd, 4% NaCl und 1,6% $K_3(Fe[CN]_6)$, danach 2 Std wässern, anschließend gefrierschneiden. Erythrocytenfärbung in gesättigter alkoholischer Benzidin- und 3% Wasserstoffsuperoxydlösung, Eindecken der gefärbten Schnitte in Caedax. Wir verglichen die Blutverteilung von unterbundenen und nichtunterbundenen Nieren in den einzelnen Äthernarkosestadien im Verhältnis zu den Kontrollen.

Ergebnisse.

An den Nieren der operierten Tiere waren zum Versuchstermin makroskopisch keine entzündlichen Veränderungen mehr festzustellen. Mit Ausnahme von wenigen, anfänglichen Narkosezwischenfällen überlebten alle Tiere die Operation. 5—7 Tage nach der Operation hatten bis zu 40% der Mäuse die Schlinge selbst an- oder zugezogen und mußten deshalb ausgeschieden werden. Die restlichen Tiere kamen zu diesem Zeitpunkt in den Versuch. Untersucht wurden die Nieren von je 10 nichtnarkotisierten Mäusen mit und ohne einseitige Nierenstielunterbindungen als Kontrolle. Je 12 Tiere wurden nach Unterbindung des linken Nierenstiels im Excitations-Toleranz- und Asphyxiestadium getötet, außerdem 132 Mäuse ohne Unterbindung eines Nierenstils in den verschiedenen Stadien der Äthernarkose durchtrennt und dekapitiert.

Starke Änderungen der renalen Blutverteilung in Äthernarkose waren praktisch nur in der Rinde zu verzeichnen. Wir fanden bei nichtnarkotisierten Mäusen in unterbundenen und nichtunterbundenen Nieren arterielle Rindengefäße, Glomerula und venöse Rindengefäße dargestellt. Die nichtunterbundenen Nieren zeigten eine etwas geringere Füllung, vor allem der Intertubulärcapillaren (Abb. 1a u. b). Im Excitations- und Toleranzstadium der Äthernarkose beobachteten wir zwei Typen von

[1] Wir danken den Farbwerken Bayer für Aquacillin.

Blutverteilung, die sich nicht einem bestimmten Stadium zuordnen ließen. Bei dem ersten Typ zeigte sich eine starke Füllung aller Rindengefäße mit relativ schwacher Darstellung der Glomerula in der unterbundenen Niere, während bei der nicht unterbundenen Niere die Glomerula durch die geringe Füllung der anderen Rindengefäße deutlicher hervortraten, obgleich sie nicht stärker blutgefüllt waren als die der unterbundenen Niere (Abb. 2a u. b). Bei dem zweiten in Excitations- und Toleranzstadium vorkommenden Blutverteilungstyp waren in der Rinde der unterbundenen Niere nur arterielle Gefäße und Glomerula sichtbar. Die nichtunterbundenen Nieren der gleichen Tiere zeigten eine Blutleere in den äußeren zwei Drittel der Rinde, im inneren Drittel der Rinde eine deutliche Darstellung von marknahen Glomerula und Gefäßen (Abb. 3a u. b). Im Gegensatz zu diesem Verhalten fiel im Asphyxiestadium eine außerordentlich starke Blutfülle aller Gefäße in unterbundenen und nichtunterbundenen Nieren auf (Abb. 4a u. b). Die in der zweiten Versuchsreihe von Mäusen ohne Unterbindung beider Nieren gewonnenen Blutverteilungsbilder entsprachen denen der nichtunterbundenen, rechten Nieren aus der ersten Versuchsreihe in den verschiedenen Narkosestadien. Tab. 1 gibt eine Übersicht der Verteilungstypen in beiden Versuchsreihen.

Tabelle 1. *1. Versuchsreihe (Unterbindung der linken Niere).*

Narkosestadium	Excitation		Toleranz		Asphyxie
Art d. Blutverteilung in unterbunden u. nichtunterbundenen Nieren	Typ 1	Typ 2	Typ 1	Typ 2	starke, allgemeine Gefäßfüllung
entsprechend	Abb. 2a + b	Abb. 3a + b	Abb. 2a + b	Abb. 3a + b	Abb. 4a + b
Anzahl der Tiere . . .	7	5	8	4	12
insgesamt	12		12		12

2. Versuchsreihe (Beide Nieren nicht unterbunden).

Art der Blutverteilung	Typ 1	Typ 2	Typ 1	Typ 2	starke, allgemeine Gefäßfüllung
entsprechend	Abb. 2b	Abb. 3b	Abb. 2b	Abb. 3b	Abb. 4b
Anzahl der Tiere . . .	19	11	31	26	45
insgesamt	30		57		45

Diskussion.

Kurz nach unseren ersten Versuchen mit Mäusen wurde das Durchtrennen von Ratten zwischen Herz und Nieren von J. W. Still angegeben. Eine weitere Arbeit von Still u. Whitcomb ist kürzlich erschienen. Die Autoren hatten durch einen 3—4 Tage vorher in die Aorta

von caudal bis in die Nähe des Abgangs der Nierenarterie vorgeschobenen Katheter Tusche schnell injiziert (5 sec) und wollten durch die Art des Tötens mögliche Nerveneinflüsse auf die Durchblutung der Nieren ausschließen. Nach ihrer Ansicht entsprachen die von ihnen erhaltenen Bilder der wirklichen Tuscheverteilung bzw. der Durchblutung zum Zeitpunkt der Tötung des Versuchstieres. Unsere Versuche mit dem Vergleich von (nach Kuhlgatz) unterbundenen und nichtunterbundenen Nieren bei der gleichen Tötungsart machen diese Annahme unwahrscheinlich, vorausgesetzt, daß Ratten sich ähnlich verhalten wie Mäuse. Sowohl im Excitations- wie im Toleranzstadium der Äthernarkose wiesen nicht unterbundene Nieren deutliche Unterschiede in der Blutverteilung gegenüber unterbundenen auf. Geringer war der Unterschied bei nichtnarkotisierten Tieren, im Stadium der Asphyxie fehlte er ganz. Die verschiedene Blutfülle in unterbundenen und nicht unterbundenen Organen ist also wohl nicht unmittelbar auf die Durchblutung, sondern nur auf den Tonus der Nierengefäße zu beziehen, der unter bestimmten Bedingungen verändert sein kann. Unter dem Einfluß einer Tonuserhöhung kann dann das normalerweise vorhandene Blut aus den betreffenden Gefäßen der nichtunterbundenen Nieren exprimiert werden. Eine Bestätigung für diese Annahme erhält man, wenn in Äthernarkose das Abdomen einer Maus eröffnet wird und die vorher dunkelroten Nieren nach Durchschneiden der Aorta und Vena cava augenblicklich blaßbraun erscheinen. Die nichtunterbundene Niere gibt also nicht in jedem Falle ein reelles Bild der Blutverteilung, während das Bild der unterbundenen den intravitalen Verhältnissen sehr viel näher kommen dürfte. Allerdings könnte es in der Niere selbst nach der Unterbindung noch zu Blutverschiebungen kommen. Als Ursache von solchen intrarenalen Blutverschiebungen müßten die Kontraktion bestimmter Gefäße und die Dilatation anderer angenommen werden. Wenn es sich um eine infolge des anatomischen Baues zu erklärende Verschiebung von der arteriellen auf die venöse Seite handelte, so würde ein ziemlich gleichmäßiger Befund zu erheben sein. Ein derart gleichförmiges Bild ist in unterbundenen Nieren nicht zu beobachten. Sollte dagegen die postmortale Reaktion eines Gefäßes von seinem Zustand in vivo abhängen, so wäre entweder eine Annäherung des Tonus — und der Blutverteilung — an den Normalzustand möglich oder aber eine Verstärkung der intravitalen Reaktionslage. Gefundene Änderungen dürften also nur quantitativ vom Verhalten während des Lebens abweichen. Erhalten wir auf diese Weise schon in unterbundenen Nieren einen Anhaltspunkt für den Tonuszustand der Gefäße unter bestimmten Bedingungen, so wird durch den systematischen Vergleich mit nichtunterbundenen Nieren eine vorhandene Reaktionslage stark verdeutlicht. Hier vermögen die Gefäße infolge des plötzlichen Druckabfalles gegen 0, je nach ihrem augenblicklichen Tonus, das in ihnen enthaltene

Blut auszupressen oder blutgefüllt zu bleiben. Eine Verfälschung unserer Ergebnisse durch eine von der Unterbindung des linken Nierenstieles ausgelöste Änderung der Gefäßreaktionen in der rechten Niere des gleichen Tieres, konnten wir durch den Vergleich dieser mit den nicht-unterbundenen Nieren von „einfach durchtrennten und dekapitierten" Mäusen ausschließen.

Betrachten wir die von uns auf die geschilderte Weise erhaltenen Blutverteilungen als Ausdruck des Tonuszustandes bestimmter Nierengefäße, so kommen wir zu folgenden Schlüssen: Im Excitations- und im Toleranzstadium der Äthernarkose weisen die Nieren von Mäusen zwei vom Normalzustand abgrenzbare Änderungen des Gefäßtonus auf. Im ersten Fall liegt eine Tonuserhöhung der Rindengefäße, vielleicht besonders der vasa afferentia vor, wie aus der geringen Darstellung der Glomerula in unterbundenen Nieren zu schließen wäre. Im zweiten Fall ist das Ausmaß der Tonisierung stärker. In der Rinde von unterbundenen Nieren sind nur arterielle Gefäße und Glomerula dargestellt, das Fehlen von vasa efferentia und Intertubulärcapillaren läßt an einen vas efferens-Spasmus denken. Die Rinde von entsprechenden, nichtunterbundenen Nieren, ist bis auf das innere Drittel (marknahe Glomerula und Gefäße) blutleer. Sicher erscheint die Tonuserhöhung der Rindengefäße in den beiden ersten Narkosestadien. Als Ursache der Blutfülle von unterbundenen und nicht unterbundenen Nieren im Asphyxiestadium nehmen wir eine allgemeine Gefäßdilatation an. Die von uns im Excitations- und Toleranzstadium der Äthernarkose in nicht unterbundenen Nieren gesehenen Blutverteilungen mit blutleerer Rinde bei gefüllten marknahen Glomerula und Markgefäßen (Abb. 3b), gleichen den von Trueta u. Mitarb., vor allem am Kaninchen gezeigten Bildern nach Tusche- und Farbstoffinjektionen, die zur Theorie des juxtamedullären Kurzschlusses führten. J. W. Still u. E. R. Whitcomb fanden ähnliche Tuscheverteilungen in Rattennieren und deuteten sie nach Trueta.

Aus den oben ausführlich erörterten Gründen lassen sich die Befunde der beiden letzten Autoren an nichtunterbundenen Rattennieren auch anders erklären. Vor allem dürfte man aus der Verteilung injizierter Tusche, besonders in einer Versuchsanordnung bei der sich die Nierengefäße postmortal entleeren können, nicht ohne weiteres auf eine bestimmte Durchblutungsart schließen. Zu den Truetaschen Ergebnissen, die nicht nur mit Tusche- oder Farbstoffinjektionen, sondern auch mit Gefäßradiographien am lebenden Tier erhoben wurden, ist die benutzte Nembutal-Äthernarkose zu vermerken.

Wir untersuchten das Ausmaß der bekannten Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren durch Äthernarkose unter unseren Versuchsbedingungen an Mäusen. Es war eine deutliche Verarmung der Nebennieren an Adrenalin festzustellen. Mit einem Teil der ausgeschütteten Adrenalinmenge — trainierten Mäusen i.v. injiziert — konnten wir ähnliche Reaktionen der Nierengefäße beobachten, wie wir sie in

Äthernarkose erhalten hatten (Jungblut). Eine durch Adrenalinausschüttung bedingte Tonusänderung der Nierengefäße von Mäusen in Äthernarkose ließe sich so als Ursache unserer Befunde in Betracht ziehen. Inwieweit der juxtamedulläre Kurzschluß von Trueta u. Mitarb. durch eine Adrenalinausschüttung bedingt sein könnte, wäre zu erörtern. Nach Ischiadicus-Reizung z. B. — einer Versuchsanordnung von Trueta — fanden von Euler u. Folkow ebenfalls eine Adrenalinverarmung der Nebennieren von Katzen. Zu den von Trueta gesehenen juxtamedullären Durchblutungsveränderungen an Hand der Gefäßradiographien, können wir auf Grund unserer Befunde nicht Stellung nehmen. Immerhin kann eine Äthernarkose sicher nicht als physiologisch indifferent angesehen werden.

Die scheinbare Bestätigung des Trueta-Phänomens durch Still und Whitcomb an unbehandelten Ratten dürfte nach den oben berichteten Ergebnissen mit Mäusen auf einer nicht einwandfreien Auslegung ihrer Befunde beruhen, vorausgesetzt, daß sich die Nierengefäße von Ratten nicht wesentlich anders verhalten als die von Mäusen, was nach Höpker u. Meesen wenig wahrscheinlich ist.

Zusammenfassung.

Durch den Vergleich von in vivo unterbundenen und nichtunterbundenen Nieren läßt sich mit Hilfe der Benzidinfärbung von Slonimski u. Cunge der Tonuszustand von Nierengefäßen feststellen. Im Excitations- und Toleranzstadium der Äthernarkose findet eine Tonuserhöhung der Rindengefäße statt, im Asphyxiestadium eine allgemeine renale Gefäßdilatation. Methodik und Ergebnisse werden mit den Befunden von Still u. Whitcomb vor allem in bezug auf einen Trueta-Shunt diskutiert.

Literatur.

von Euler, U. S., u. B. Folkow: Einfluß verschiedener afferenter Nervenreize auf die Zusammensetzung des Nebennierenmarkinkretes bei der Katze. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **219**, 242 (1953). - - Frey, E., u. J. Frey: in Frey, E.: Nierentätigkeit und Wasserhaushalt. Springer 1951. — Höpker, W., u. H. Meesen: Beitrag zur Angioarchitektonik der Rattenniere und zu experimentellen Durchblutungsstörungen. Ärztl. Forsch. **4**, 1 (1950). — Jungblut, P.: Die Wirkung von einmaligen intravenösen Adrenalinjektionen auf die Nierengefäße der Maus. 21. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft. 1954. — Kuhlgatz, G.: Intrarenale Blutverteilung der Rattenniere in Durst- und Wasserversuchen. Pflügers Arch. **256**, 1 (1952). — Slonimski, P., u. M. Cunge: Folia morph. (Warszawa) **7**, 126 (1937), zit. nach Zbl. Neurol. **87**, 561 (1938). — Still, J. W.: Glomerular intermittance in rats demonstrated by use of an new direct visual technic. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **81**, 579 (1952). — Still, J. W., and E. R. Whitcomb: An investigation of renal shunts in rats. Amer. J. Physiol. **178**, 399 (1954). — Trueta, J., A. E. Barclay, P. M. Daniel, K. J. Franklin, and M. M. L. Prichard: Studies of the renal circulation. Blackwell Oxford, 1947.

Dr. P. Jungblut u. Prof. Dr. G. Kuschinsky, Pharmakol. Institut d. Univ. Mainz.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 541—550 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. P. Holtz).

Vergleichende Untersuchungen mit Mono- und Dicarbonsäureestern des Cholins* **.

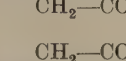
Von

A. Engelhardt, K. Greeff, W. Richter und H. J. Schümann.

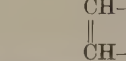
Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Februar 1955.)

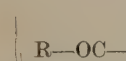
Die Auswahl der untersuchten Cholinester erfolgte unter dem Gesichtspunkt, daß in gleicher Weise wie die Essigsäure, so auch andere organische Säuren des intermediären Stoffwechsels im Organismus zur Synthese mit Cholin, und die dabei entstehenden Cholinester als körpereigene Wirkstoffe zur Ausübung bestimmter physiologischer Funktionen verwendet werden könnten.



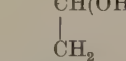
Bernsteinsäure-bis-cholinester als Bromid (mit 2 Molekülen Kristallwasser)
M.G. 486,26 F.P. 227—228°



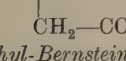
Maleinsäure-bis-cholinester als Jodid
M.G. 542, 22 F.P.188—190°



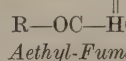
Fumarsäure-bis-cholinester als Jodid
M G. 542,22 F.P. 258—261°



Äpfelsäure-bis-cholinester als Jodid
M.G. 560,24 F.P. 190—192°



Aethyl-Bernsteinsäure-cholinester als Jodid
M.G. 359,21 F.P. 85—86°



Aethyl-Fumarsäure-cholinester als Jodid
M.G. 357,20 F.P. 145°

1. Hemmung der neuromuskulären Erregungsübertragung.

Für die Hemmung der neuromuskulären Erregungsübertragung durch aliphatische Bis-cholinester ist der in Angström-Einheiten ausdrückbare Abstand der quaternären Stickstoffatome im Molekül von

* Ein Teil der Versuche wurde noch im Rostocker Institut ausgeführt; über die Ergebnisse wurde auf der 19. Pharmakologentagung in Göttingen berichtet. (Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 135, 1953.)

** Die untersuchten Cholinester stellte uns auf Veranlassung von Herrn Dr. Credner die Firma Diwag, Chemische Fabriken Berlin und Hannoversch Münden, zur Verfügung. Als Bernsteinsäure-bis-Cholin fand auch das Handelspräparat „Pantolax" der Firma Dr. Rudolf Reiss, Berlin, Verwendung.

Herrn Prof. Dr. Paul Wels zum 65. Geburtstag.

maßgeblicher Bedeutung. Es war deshalb zu erwarten, daß wie Bernsteinsäure-bis-cholin so auch die Bis-Cholinester der homologen Dicarbonsäuren eine ausgeprägte muskelrelaxierende Wirkung besitzen.

Methodik. Die muskelrelaxierende Wirksamkeit wurde geprüft: 1. An der mit Pernocton narkotisierten *Katze*: elektrische Reizung des N. ischiadicus unter Aufzeichnung des Mechanogramms des M. gastrocnemius; 2. am *Kaninchen*: Ermittlung der „Head-drop"-Dosis bei i.v. Injektion; 3. am *Frosch*: Ermittlung der zur vollständigen Lähmung erforderlichen Dosis bei Injektion in den Brust-Lymphsack.

Aus der in der Tab. 1 gegebenen Übersicht über die an den verschiedenen Testobjekten ermittelten äquivalenten Dosen geht hervor,

Tabelle 1. *Die muskelrelaxierende Wirksamkeit der Bis- und Mono-Cholinester.* (Gleichwirksame Dosen pro kg in mg bzw. μMol.)

Bis-cholinester

	Zahl der Versuche	Bernsteinsäure		Fumarsäure		Maleinsäure		Äpfelsäure	
		mg	μMol	mg	μMol	mg	μMol	mg	μMol
1 Frosch (Lähmung)	5	3,0	6,18	5,0	9,22	4,0	7,39	10,0	17,85
2 Kaninch. (Headdrop)	5	0,24	0,50	0,28	0,52	0,18	0,34	—	—
3a Katze (Ischiadicus/ Gastrocn.)	5	0,1	0,21	0,20	0,36	0,07 —0,10	0,14 —0,18	0,5 —1,0	0,90 —1,78

Mono-cholinester

	Zahl der Versuche	Bernsteinsäure		Fumarsäure		Brenztraubensäure		Milchsäure	
		mg	μMol	mg	μMol	mg	μMol	mg	μMol
3b Katze (Ischiadicus/ Gastrocn.)	5	3,0	8,36	6,0	16,80	1,5	5,52	6,0	21,9

daß der Maleinsäureester mindestens ebenso wirksam wie Succinyl-bis-cholin, der Fumarsäureester 2—3mal, der Äpfelsäureester 3—10mal schwächer wirksam ist.

Für die Beurteilung der praktischen Verwendbarkeit als Muskelrelaxans ist das Verhältnis der Wirksamkeit an der Skelet- und Atemmuskulatur unter Umständen von Bedeutung. So soll z. B. Dekamethonium gegenüber Curare den Vorteil haben, daß bei ihm die Spanne zwischen den an der Skelet- und Atemmuskulatur wirksamen Dosen größer ist (Paton u. Zaimis). — Die Abb. 1 zeigt, daß bei einer Beurteilung unter diesen Gesichtspunkten der Bernsteinsäureester dem Maleinsäureester gegenüber Vorteile besitzt. In diesem Versuch verursachen 0,2 mg/kg Bernsteinsäure-bis-cholin eine etwas stärkere

Hemmung am *Skeletmuskel* als 0,1 mg/kg Maleinsäureester; trotzdem hat dieser eine wesentlich stärkere Hemmungswirkung auf die *Atmung* und verursacht deshalb (siehe Absatz 4) einen stärkeren Blutdruckanstieg.

Ersetzt man in den Bis-cholinestern der Dicarbonsäuren ein Cholinmolekül durch ein Molekül Äthylalkohol, so bedeutet das den Fortfall des zweiten quaternären Stickstoffatoms. Erwartungsgemäß nimmt dadurch die muskelrelaxierende Wirksamkeit ab, so daß die *Mono*cholinester der Dicarbonsäuren am Ischiadicus-Gastrocnemiuspräparat der Katze zur Erzielung gleicher Effekte in 30 bis 60fach höherer Dosierung als die Bis-cholinester verabfolgt werden müssen. Diese Dosen liegen in der gleichen Größenordnung wie diejenigen der Cholinester einfacher *Mono*carbonsäuren, z. B. der Brenztraubensäure und Milchsäure (Tab. 1, 3).

Abb. 1. Vergleich der Wirkungen von Bernsteinsäure-bis-cholin und Maleinsäure-bis-cholin an Blutdruck, Skelettmuskulatur und Atmung. Katze 2,5 kg, Pernoctonnarkose. Oben: Atmung; Mitte: Gastrocnemiuskontraktionen; Unten: Blutdruck. Ischiadicusreizung mit Schlitteninduktorium nach DUBOIS REYMOND alle 30 sec. Dosierung mg/kg.

2. Versuche am Froschrectus.

Für die Kontraktionswirkung der Cholinester am quergestreiften Muskel ist ein zweites quaternäres Stickstoffatom ohne Belang. Acetylcholin ist hier die wirksamste Verbindung. Es ist deshalb verständlich, daß die Monocholinester der Dicarbonsäuren, z. B. Bernsteinsäuremonocholin an diesem Testobjekt praktisch gleichwirksam sind wie die Bis-cholinester. Immerhin sind sie wirksamer als die Cholinester der Monocarbonsäuren Brenztraubensäure und Milchsäure (Tab. 2).

Am Froschrectus ist von den Bis-cholinen wiederum der Äpfelsäureester am schwächsten wirksam, schwächer sogar als der Bernsteinsäure-*mono*-cholinester. Die schwächere Wirksamkeit auch des Brenztraubensäure- und Milchsäureesters könnte dafür sprechen, daß die Einführung

sauerstoffhaltiger Oxy- und Keto-Gruppen in das Molekül der Säurekomponente eine Abschwächung der Wirksamkeit verursacht.

Unterschiede zwischen den verschiedenen Cholinestern bestehen in bezug auf die Verstärkbarkeit der Wirkung durch *Eserin*. So wird z. B.

Tabelle 2. *Die Wirksamkeit der Cholinester am Froschrectus.*

	Äquivalente Dosen in γ/20 cm³ Ringer		Verstärkung durch Eserin
Ac—Ch	10	(1)	+
B-bis-Ch	30	(1,1)	—
Fu-bis-Ch	50	(1,66)	—
Ae-bis-Ch	250	(8,0)	+
B-mono-Ch	40	(2,0)	+
Br-Ch	100	(6,66)	—
Mi-Ch	200	(13,3)	+

Ac = Acetyl; B = Bernsteinsäure; Fu = Fumarsäure; Ae = Äpfelsäure; Br = Brenztraubensäure; Mi = Milchsäure. (Die Zahlen in Klammern bedeuten äquivalente Dosen in Mol bezogen auf Acetylcholin = 1.)

die Wirkung des Milchsäureesters ähnlich wie die des Acetylcholins durch Eserin verstärkt, die Wirkung des Bernsteinsäure- und Fumarsäure-bis-cholins sowie des Brenztraubensäureesters hingegen nicht (Tab. 2). Bemerkenswert ist, daß im Gegensatz zum Bis-cholinester der Mono-cholinester der Bernsteinsäure (Äthyl-Bernsteinsäurecholin) durch Eserin verstärkt wird. — Im Einklang hiermit steht die Spaltbarkeit durch die Cholinesterase: Der Milchsäureester wird ebensogut gespalten wie Acetylcholin, der Brenztraubensäureester und Bernsteinsäure-bis-cholin werden durch das Ferment nicht nennenswert angegriffen (Abb. 2).

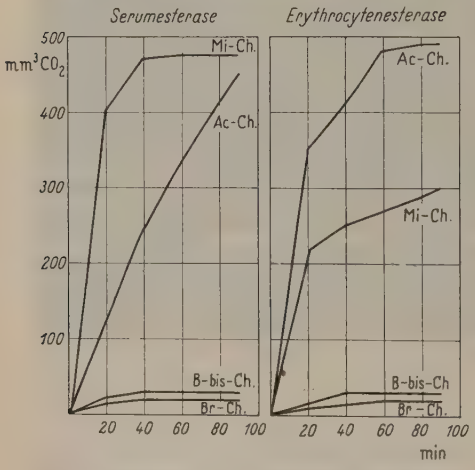


Abb. 2. Spaltung von Acetylcholin, Milchsäurecholin, Brenztraubensäurecholin und Bernsteinsäure-bis-cholin durch menschliche Cholin-Esterase. Warburg-Apparatur: 1,5 cm³ m/40 Cholinester in Krebs-Ringer-Lösung mit 0,5 cm³ Serum 1 : 5 bzw. 0,5 cm³ einer Suspension gewaschener Erythrocyten, N_2-Atmosphäre, 37° C.

3. *Darmwirkung.*

Für die „muscarinartige" Darmerregung der Cholinester ergibt sich die umgekehrte Reihenfolge wie für ihre Wirkung auf die neuromuskuläre Erregungsübertragung. Aus der Tab. 3 ist zu ersehen, daß die Ester mit der schwächsten muskelrelaxierenden Wirkung — die Monocarbonsäureester und von den

Tabelle 3. *Die darmerregende Wirkung der Cholinester.*
(Äquivalente Dosen, bezogen auf Acetylcholin [Ac-Ch] = 1.) Atropin bzw. Curare heben die Darmerregung auf (+), schwächen sie ab (+—), lassen sie unbeeinflußt (—).

	Kaninchendarm			Meerschweinchendarm
	Äquivalente Dosen		Atropin	Curare
	in γ	in Mol		
Ac-Ch	1	1	+	+—
Br-Ch	1000	666	+	+—
Mi-Ch	1000	660	+	+—
	— 1500	— 990		
Fu-bis-Ch	1000	334	+	+—
	1500	— 500		
Ae-bis-Ch	1500	485	+	+—
B-mono-Ch	4000	2015	+—	+—
B-bis-Ch	15000	5590	—	+
Ma-bis-Ch	15000	5010	—	+

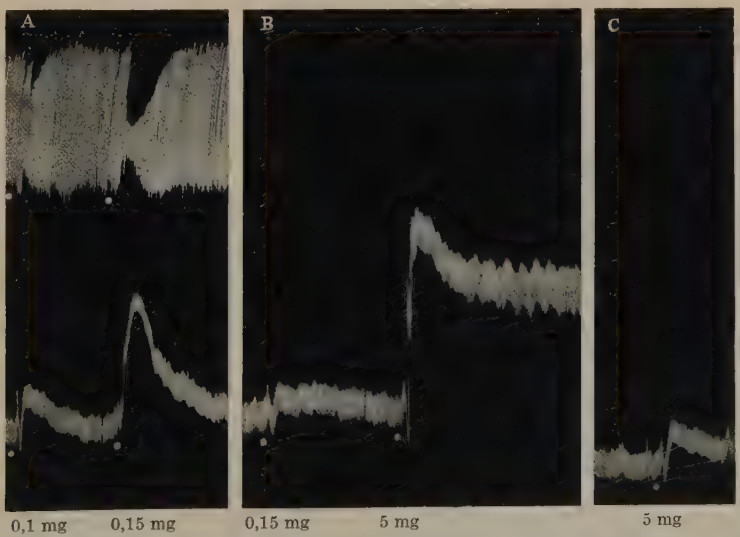


Abb. 3. Die blutdrucksteigernde Wirkung des Bernsteinsäure-bis-cholinesters (Succinylcholin) und ihre Beeinflussung durch künstliche Atmung und Ganglienblocker (siehe Text). Katze 3,1 kg, Pernoctonnarkose. *A* Obere Kurve: Atmung. Untere Kurve: Blutdruck. *B* Bei künstlicher Atmung. *C* Nach Pendiomid (1 mg/kg i.v.). Dosierung des Bernsteinsäureesters in mg/kg.

Dicarbonsäureestern das Fumarsäure- und Äpfelsäure-bis-cholin — am stärksten darmerregend wirken; trotzdem müssen sie 1—5tausendfach höher dosiert werden als Acetylcholin, um eine gleichstarke Darmkontraktion hervorzurufen. Diese läßt sich durch Atropin verhindern, durch Curare nur wenig abschwächen. — Demgegenüber

sind bei dem besonders stark muskelrelaxierend wirkenden Bernsteinsäure- und Maleinsäure-bis-cholin zur Erzielung gleichstarker Darmerregungen 15000fach höhere Dosen als beim Acetylcholin erforderlich, und die von ihnen verursachte Darmerregung läßt sich nicht durch Atropin, wohl aber durch Curare verhindern.

Tabelle 4. *Blutdrucksenkende Wirksamkeit der Cholinester an der Katze.* (Gleichwirksame Dosen in γ/kg.)

Ac-Ch	1	(1)
Br-Ch	400	(266)
Mi-Ch	800	(529)
Fu-bis-Ch	1000	(334)
Ae-bis-Ch	1000	(324)
Fu-mono-Ch	4000	(2025)
B-mono-Ch	4500	(2270)

(Die Zahlen in Klammern bedeuten äquivalente Dosen in Mol bezogen auf Acetylcholin = 1.)

4. Blutdruckwirkung.

Die gleiche Reihenfolge wie für die „muscarinartige", atropinempfindliche *darmerregende* Wirkung der Cholinester ergibt sich für ihre *blutdrucksenkende* Wirkung. Die Bis-cholinester der Bernstein- und Maleinsäure, die nur bei hoher Dosierung eine — atropinresistente und curareempfindliche — Darmerregung hervorriefen, stehen auch hier außerhalb der Reihe: Im Gegensatz zu allen anderen wirken sie auch an der nicht-atropinisierten Katze blutdruck*steigernd*. Die in der Abb. 1 zum Ausdruck kommenden Blutdruckerhöhungen nach *kleinen* Dosen (0,1 bis 0,2 mg/kg) sind offenbar durch die schon bei dieser Dosierung erfolgende Hemmung der neuromuskulären Erregungsübertragung im Bereich der Atmungsmuskulatur bedingt, also durch eine Hemmung der Atmung;

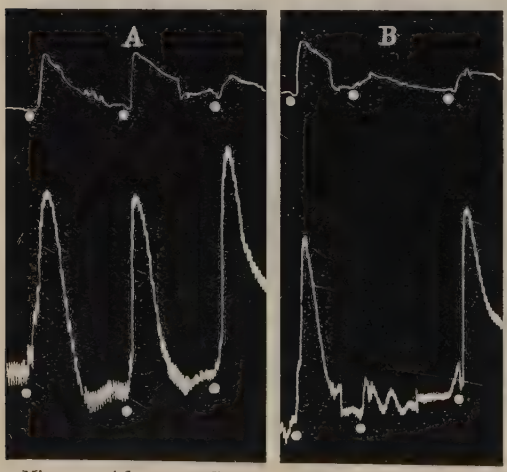


Abb. 4. Vergleich zwischen Milchsäure- und Brenztraubensäure-Cholinester. Katze 2,4 kg, Pernoctonnarkose, Atropin 2 mg/kg. Oben: Nickhaut. Unten: Blutdruck. Zwischen *A* und *B*: Nebennieren unterbunden. *Mi.* 4 mg Milchsäure-Cholinester. *Adr.* 3 γ l-Adrenalin. *Br.* 6 mg Brenztraubensäure-Cholinester.

denn die Blutdruckanstiege sind dieser proportional und lassen sich durch künstliche Beatmung verhindern (Abb. 3 *B*). Aber auch am

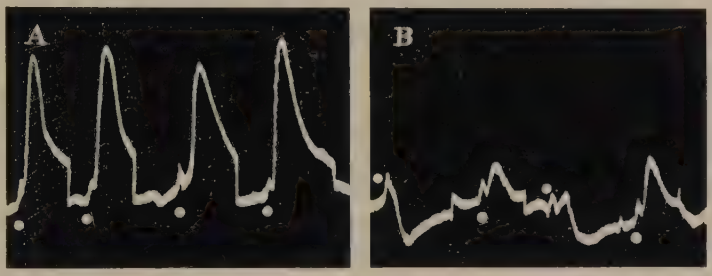


Abb. 5. Beeinflussung der blutdrucksteigernden Wirkung von Milchsäure- und Brenztraubensäure-Cholinester durch Yohimbin (siehe Text). Katze 2 kg, Pernoctonnarkose, künstliche Atmung, 2 mg/kg Atropin. sulfur. *Adr:* 1 γ l-Adrenalin; *Art*: 0,5 γ l-Arterenol; *Mi:* 1 mg/kg Milchsäurecholin; *Br*: 0,5 mg/kg Brenztraubensäurecholin. *A*: vor, *B*: nach Yohimbin (5 mg/kg i.m.).

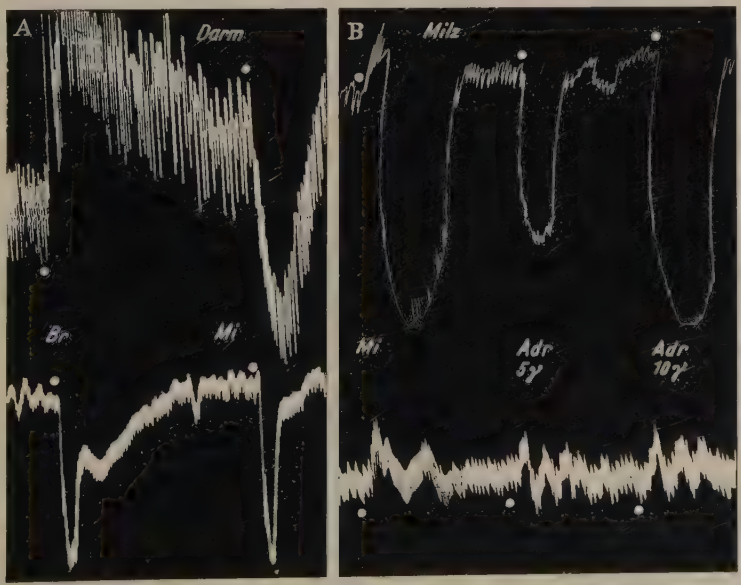


Abb. 6. Adrenalinähnliche Wirkung des Milchsäure-Cholinesters. *A*: Hund 12 kg, Chloralosenarkose (kein Atropin). *Mi*, *Br*: Je 10 mg Milchsäure- bzw. Brenztraubensäure-Cholinester. — *B*: Hund 14 kg, Pernoctonnarkose. Atropin.sulfur. 0,5 mg/kg. *Mi*: 10 mg Milchsäure-Cholinester. *Adr*: l-Adrenalin.

künstlich beatmeten Tier verursachen die beiden Bis-cholinester starke pressorische Wirkungen, wenn man höher dosiert. Diese Wirkung ist durch eine Stimulierung sympathischer Ganglien bzw. des Nebennieren-

marks verursacht und läßt sich deshalb durch einen Ganglienblocker — Pendiomid[1] — verhindern (Abb. 3 *C*).

Auch die blutdrucksenkenden Cholinester wirken nach Atropin und bei höherer Dosierung blutdruck*steigernd*, und auch jetzt verhindert Pendiomid die Wirkung. — Bei Versuchen mit dem Milchsäure- und Brenztraubensäureester konnten wir wiederholt — in 3 von 8 Fällen — die Beobachtung machen, daß die pressorische Wirkung des Milchsäureesters nach Exstirpation bzw. Unterbindung der Nebennieren ausblieb. Die Abb. 4 gibt ein Beispiel für einen dieser Fälle, in dem auch die gleichzeitig registrierten Wirkungen auf die Nickhaut für eine besondere „Affinität" des Milchsäureesters zum Nebennierenmark sprechen. In die gleiche Richtung weisen Versuche an Hunden und Katzen, in denen die annähernd äquipressorische Wirkung der beiden Ester durch Yohimbin oder Regitin[2] im einen Fall (Milchsäureester) „adrenolytisch" in eine depressorische Wirkung umgekehrt, im anderen Fall (Brenztraubensäureester) nur „sympathicolytisch" abgeschwächt wurde (Abb. 5). Für eine besondere Affinität des Milchsäureesters zum Nebennierenmark würde schließlich auch sprechen, daß seine am nichtatropinisierten Tier blutdruck*senkende* Wirkung mit einer reinen Darmhemmung einhergeht (Abb. 6 *A*), daß er beim Hund eine adrenalinähnliche Milzkontraktion (Abb. 6 *B*) und beim Kaninchen eine starke Erhöhung des Blutzuckerspiegels verursacht (Bachmann).

Bemerkungen.

Von den Ergebnissen sind die folgenden vielleicht von besonderem Interesse, weil sie einigermaßen durchsichtige Beziehungen zwischen Wirkung und chemischer Konstitution bzw. Konfiguration erkennen lassen.

Über diese Beziehungen in der Gruppe der Bis-cholinester der höheren Homologen der Bernsteinsäure (z. B. Adipin-, Sebacinsäure) siehe vor allem die Arbeiten von Ginzel, Klupp u. Werner, von Klupp, Kraupp, Stormann u. Stumpf; ferner Bovet u. Mitarb.

Der Bis-cholinester der ungesättigten *Maleinsäure* hat praktisch an allen Testobjekten die gleiche Wirkung und Wirksamkeit wie der Ester der homologen gesättigten Bernsteinsäure; seine Hemmungswirkung auf die neuromuskuläre Erregungsübertragung betrifft jedoch in deutlich stärkerem Maße als beim Bernsteinsäureester die Atmungsmuskulatur. — Die Umlagerung der cis-konfigurierten Maleinsäure in die trans-konfigurierte Fumarsäure hat maßgeblichen Einfluß auf die pharmakologische Wirkung. Sie bedeutet eine Abnahme der neuromuskulären Wirksamkeit um das 2—3fache, andererseits das Auftreten muscarinartiger, atropinempfindlicher Wirkungen am Darm und am Blutdruck.

[1] N,N,N′,N′-3-Pentamethyl-N,N′-diäthyl-3-aza-pentylen-1,5-diammoniums.

[2] 2-(N-p-Tolyl-N-m-oxyphenyl-aminomethyl)-imidazolin.

Der Bis-cholinester der *Fumarsäure* wirkt in relativ niedriger Dosierung darmerregend und blutdruck*senkend*, Atropin verhindert beide Wirkungen. Der *Maleinsäure*ester wirkt nur in hoher Dosierung darmerregend und blutdruck*erhöhend*. Nicht Atropin, wohl aber *Curare*, *Pendiomid*, *Hexamethonium* verhindern die Wirkungen. — Die Einführung einer OH-Gruppe in das Molekül der Bernsteinsäure verursacht eine noch stärkere Abschwächung der neuromuskulären Hemmungswirkung.

Am atropinisierten Tier und bei höherer Dosierung wirken auch die sonst blutdruck*senkenden* Cholinester der Milchsäure und Brenztraubensäure blutdruck*steigernd*. Unter diesen Versuchsbedingungen ließen sich wiederholt, wenn auch nicht regelmäßig, Wirkungen des Milchsäureesters zeigen, die eher mit einer überwiegend aus *Adrenalin* bestehenden Hormonausschüttung aus dem Nebennierenmark zu erklären waren als mit einer Erregung sympathischer Ganglien, die überwiegend eine vermehrte Freisetzung von *Nor-Adrenalin* in der Peripherie der sympathischen Innervation bedeuten würde —, während für den Brenztraubensäureester das Umgekehrte zutraf. Hierfür sprach vor allem, daß die pressorische Wirkung des Milchsäureesters im Gegensatz zu derjenigen des Brenztraubensäureesters durch ein Adrenolyticum — Yohimbin, Opilon[1], Rigitin — nicht nur abgeschwächt, sondern in eine depressorische umgekehrt wurde, und daß sie ebenfalls im Gegensatz zur blutdrucksteigernden Wirkung des Brenztraubensäureesters nach Ausschaltung der Nebennieren ausblieb.

Eine Durchsicht unseres gesamten Versuchsmaterials ergibt, daß in den Fällen, in denen die Wirkungen des Milchsäurecholins adrenalinähnlich waren, Dosierungen von 0,7—2,0 mg/kg genügten, um deutliche Effekte zu erzielen, daß hingegen in allen anderen Fällen hierzu Dosierungen von 5—10 mg/kg erforderlich waren. Bei diesen hohen Dosierungen hat offensichtlich auch der Milchsäureester eine starke Erregungswirkung auf die sympathischen Ganglien, womit dann das bei niedrigerer Dosierung in Erscheinung tretende Bild reiner Adrenalinwirkungen verwischt wird.

Zusammenfassung.

1. Der Bis-cholinester der Maleinsäure hemmt die neuromuskuläre Erregungsübertragung fast gleichstark wie der Bernsteinsäureester. Beim Maleinsäureester ist jedoch die Spanne zwischen den an der Skelet- und Atmungsmuskulatur wirksamen Dosen geringer.

2. Der Fumarsäureester ist „neuromuskulär" 2—3mal schwächer wirksam; er besitzt eine atropinempfindliche, darmerregende und blutdrucksenkende Wirkung.

[1] Acetoxy-thymoxy-äthyl-dimethylamin.

Die darmerregende Wirkung des Bernsteinsäure- und Maleinsäureesters ist atropinresistent; sie läßt sich durch Curare oder Hexamethonium verhindern. Diese beiden Bis-cholinester wirken schon am nicht-atropinisierten Tier blutdruck*steigernd*. Diese Wirkung *kleiner* Dosen tritt bei künstlicher Atmung nicht auf; die auch am künstlich beatmeten Tier blutdrucksteigernde Wirkung größerer Dosen läßt sich durch Ganglienblocker verhindern.

3. Die blutdruck*senkenden* Cholinester der Milchsäure und Brenztraubensäure wirken am *atropinisierten* Tier blutdruck*steigernd*. Der Milchsäureester besitzt eine besondere Affinität zum Nebennierenmark. Die Wirkungen auf Blutdruck, Darm, Milz und Blutzuckerspiegel lassen sich mit einer überwiegend aus Adrenalin bestehenden Hormonausschüttung aus dem Nebennierenmark erklären. Demgegenüber scheinen die Wirkungen des Brenztraubensäureesters überwiegend auf einer Erregung sympathischer Ganglien zu beruhen und durch das damit verbundene vermehrte Freiwerden von Nor-adrenalin an den sympathischen Nervenenden verursacht zu sein.

4. Der Bernsteinsäure-bis-cholinester und der Brenztraubensäure-cholinester werden durch Cholinesterase nicht nenenswert gespalten; ihre Wirkung am Froschrectus wird durch Eserin nicht verstärkt. — Der Bernsteinsäure-mono-cholinester wird ebenso wie der Milchsäureester gespalten; Eserin verstärkt ihre Kontraktionswirkung am Froschrectus.

Literatur.

Bachmann, F.: Dr.-Dissertation. Rostock 1952. — Bovet, D., F. Bovet-Nitti, S. Guarino, V. G. Longo u. R. Fusco: Arch. internat. Pharmacodynamie **88**, 1 (1951). — Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 79 (1951). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 453 (1951); **215**, 103 (1952). — Klupp, H., O. Kraupp, H. Stormann u. Ch. Stumpf: Arch. internat. Pharmacodynamie **96**, 161 (1953). — Paton, W. D. M., and E. J. Zaimis: Brit. J. Pharmacol. **4**, 381 (1949).

Dr. K. Greeff, Frankfurt/Main, Pharmakol. Institut der Universität, Ludwig-Rehn-Str. 14.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 225, S. 551—556 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. med. Eduard Keeser).

Ein Beitrag zur Wirkung von Elastase.

Von
K.-F. Benitz.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Februar 1955.)

Das von Banga[3, 4] aufgefundene Ferment Elastase (Literaturzusammenstellung bei Hertel[11]) weist nach den bisher vorliegenden Untersuchungen 4 Wirkungskomponenten auf:

1. Es findet sich eine Lysis von elastischen Fasern, die anschwellen und eine ausgesprochene Fragmentation zeigen; oft finden sich innerhalb der spindlig aufgetriebenen Fasern mit unscharfen, gezähnelten Konturen vacuolige Defekte sowie manchmal eine feine Querstreifung (Balo u. Banga[2]; Benitz[6]).

2. Chemische Untersuchungen von Banga u. Schuler[5] sowie eigene morphologische und papierchromatographische Untersuchungen[6] machen eine proteolytische Wirkung wahrscheinlich.

3. Hall u. Mitarb.[10] folgern aus ihren Untersuchungen, daß die Elastasewirkung in einer Abspaltung von Polysaccharidsymplexen aus ihren Eiweißverbindungen besteht. Dabei werden hochpolymere Saccharide und deren Säurereste frei. Aus diesen Gründen wäre Elastase als eine „Mukase" anzusehen.

4. Pepler u. Brandt[18] beobachteten nach Einwirkung von Elastase ein Verschwinden der Metachromasie.

Nun finden sich in der Literatur Hinweise, daß Gefäße alter Individuen (Schwarz u. Dettmer[19]) oder von Arteriosklerotikern (Balo u. Banga[1]) durch das elastolytische Prinzip weniger angreifbar sind als jugendliche unveränderte Arterien. Es erschien daher wünschenswert, die Wirkung von Elastase auf Strukturen pathologisch veränderter Gefäße näher zu untersuchen.

Material und Methodik.

Als Substrat dienten arteriosklerotische Herde von Kaninchen, bei denen mittels kombinierter Adrenalin-Cholesteringaben morphologische und histochemische Wandveränderungen erzeugt wurden, die bereits in einer früheren Mitteilung[6] dargestellt worden sind. Diese Gewebe wurden sorgfältig vom umgebenden Bindegewebe befreit und 36 Std in einer 0,15%igen Lösung von Elastase* in Boratpuffer von p_H 9,3 bei 37,5° C unter Thymolschutz inkubiert. Als Kontrollen dienten unbehandelte Gewebsstücke gleicher Herkunft. Anschließend erfolgte eine Paraffineinbettung über Alkohol-Celloidin.

* Für die Überlassung des nach der Methode von Banga[3] dargestellten Elastasepräparates danke ich Frau Prof. Dr. I. Banga in Budapest.

Färbungen. Hotchkiss-Reaktion, Alcian Blue nach Stedman-Pearse, metachromatische Färbung mit Toluidinblau, Darstellung der elastischen Fasern mit Orcein-Hämalaun, Methylenblau-Extinktion nach Dempsey u. Singer in der Modifikation nach Pearse.

Befunde.

Bei Orceindarstellung der mit Elastase behandelten elastischen Fasern fanden sich innerhalb der Cholesterin-Atherome feine, stark aufgeknäulte elastica-positive Fibrillen mit feinkörnigem Zerfall, deren

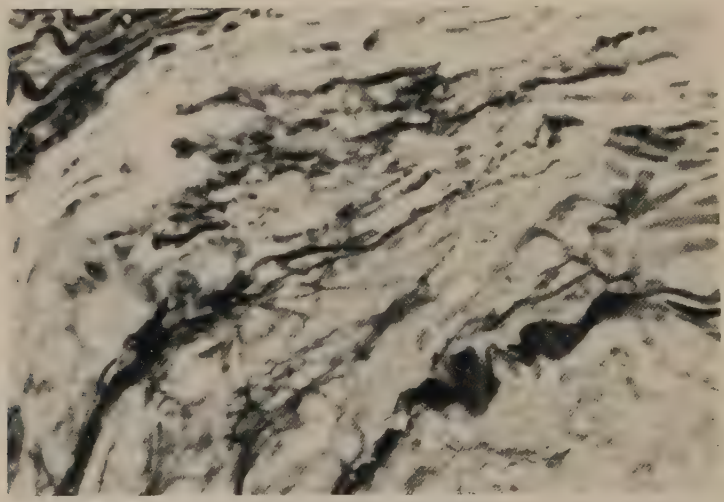


Abb. 1. Adrenalinnekrose (Orcein): Feinkörniger Zerfall und spindlige Auftreibung nach Elastasewirkung.

Färbung gegenüber den Kontrollen deutlich schwächer ausfiel. Noch deutlicher zeigte sich der elastolytische Effekt in den Adrenalin-Nekroseherden. Hier konnte ebenfalls ein Zerfall elastischer Elemente beobachtet werden, deren Bruchstücke oft perlschnurartig in der Faserverlaufsrichtung lagen.

An dünneren Fasern fand sich weiter eine deutliche feine Querstreifung ähnlich wie in einer Muskelfaser. Alle diese Veränderungen waren vornehmlich innerhalb von Nekroseherden zu finden. Daneben zeigten die elastischen Lamellen der alten Intima wie auch in unmittelbarer Nachbarschaft die auf den Kontrollschnitten unverändert darstellbaren Fasern wurst- bis spindelförmige Auftreibungen mit geringer Anfärbbarkeit durch Orcein, verbunden mit einer feinen Vakuolisation. Gelegentlich fand sich auch hier eine angedeutete Querstreifung.

Der Ausfall der metachromatischen Färbung ergab gegenüber den Kontrollen eine deutliche Abnahme bzw. Fehlen einer γ-Metachromasie. Reaktionsorte mit ausgesprochener γ-Metachromasie zeigten sich nach

Behandlung mit Elastase nur noch ganz vereinzelt in Adrenalin-Nekroseherden mit stärkerer mesenchymaler Proliferation. Manchmal waren in einigen Nekroseherden noch Färbungen im Sinne einer β-Metachromasie anzutreffen; in der Hauptsache konnte jedoch ein tiefblauer Farbton im Sinne einer α-Metachromasie beobachtet werden. Ebenso verhielten sich die interlamellären Areale zwischen auseinanderweichenden Fasern am Rande von Nekroseherden, die in Kontrollschnitten eine ausgesprochene γ-metachromatische Tingierung zeigten. In den Atheromen

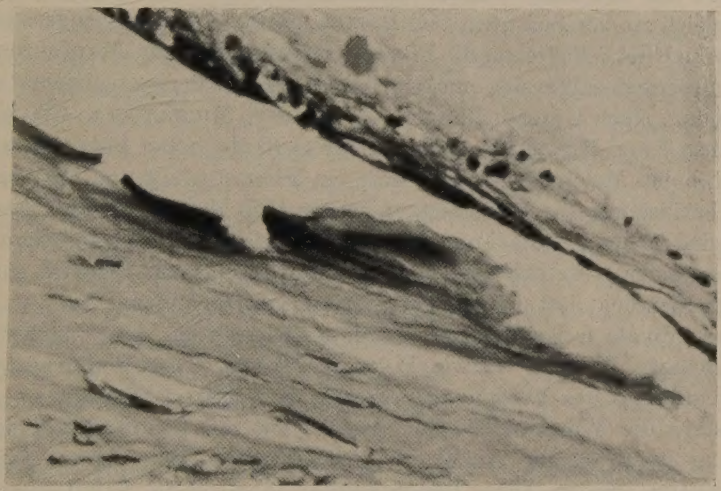


Abb. 2. Adrenalinnekrose (Alcian Blue): Positive Reaktionsorte nach Elastasewirkung.

fehlte regelmäßig jegliche metachromatische Reaktion nach Einwirkung von Elastase.

Die Darstellung von Mucopolysaccharidsäuren mit Alcian Blue ergab vornehmlich in den Adrenalin-Nekroseherden, aber auch in Atheromen, positive Reaktionsorte, die nach Einwirkung von Elastase in fast gleicher Intensität nachweisbar waren. Vor allem zwischen den sequestrierten elastischen Fasern fand sich tief blaugrünes Material, in dem die elastischen Elemente ausgespart zu erkennen waren. In den bereits erwähnten interlamellären Arealen fand sich ebenfalls nach Elastase-Einwirkung ein unverändert dunkelseegrüner Ausfall der Färbung.

Der Nachweis von Aldehydgruppen mittels Hotchkiss-Reaktion gelang bei den Kontrollen nur in Form einer schwachen purpurfarbenen Tönung. Nach Behandlung der Gewebe mit Elastase war diese Reaktion nicht mehr nachzuweisen.

Färbungen mit Methylenblau bei einem p_H von 3,54 ergaben einen deutlichen Hinweis auf das Vorhandensein von Sulfatgruppen, die sich

in den Kontrollschnitten wie auch in den mit Elastase behandelten Gewebsstücken fanden. Die Darstellung fiel jedoch nach Einwirkung von Elastase etwas schwächer aus.

Besprechung.

Nach Einwirkung der Elastase fanden sich an den elastischen Fasern gleichartige Bilder, wie sie von Balo u. Banga[1] beschrieben und in eigenen Versuchen[6] reproduziert werden konnten. Dieser elastolytische Effekt ließ sich fast in allen Gefäßwandschichten nachweisen. Der im Vergleich zu den Befunden von Balo u. Banga[2] etwas geringere elastolytische Effekt dürfte auf die Fixation des Materials zurückzuführen sein.

Außerdem zeigte sich eine deutliche Abnahme der metachromatischen Färbung. Nach Untersuchungen von Lison[12], Michaelis u. Granick[14], Pearse[16] und Meyer[13] sind freie Säureradikale, hoher Polymerisationsgrad, hohes Molekulargewicht sowie ein Mindestgehalt von 1% an Polysaccharidsäuren die Voraussetzungen für eine Metachromasie. Das Verschwinden der γ-metachromatischen Reaktion bzw. das teilweise Auftreten einer β-Metachromasie nach Einwirkung von Elastase machen wahrscheinlich, daß sich der Polymerisationsgrad ändert. Wie weit dabei Säureradikale freigesetzt und damit löslich werden, ist zunächst noch zweifelhaft. Neckel[15] sowie Hall u. Mitarb.[10] konnten nachweisen, daß während des Verdauungsprozesses von Elastin-Präparationen mit Elastase die Wasserstoffionenkonzentration der gepufferten Fermentlösung stark absank, wobei erhebliche Mengen Säure sowie Schwefel freigesetzt wurden. Diese Depolymerisation sowie die Sulfatasewirkung gleichen einem Hyaluronidase-Effekt. Wenn man den Ausfall der Metachromasie nach Einwirkung von Hyaluronidase[7] und von Elastase vergleicht, so finden sich manchmal sehr ähnliche Bilder.

Ob bei der Darstellung der Elastase aus dem Pankreas Hyaluronidase anfällt und als „Verunreinigung" zur Wirkung kommt, ist z. Zt. noch ungeklärt. Immerhin fällt auf, daß nach Gibian[8] wäßrige, schwachsaure Extraktionen mit anschließender Ammonsulfatfällung zur Darstellung von Hyaluronidase benutzt werden und daß das Darstellungsverfahren für Elastase von Banga[3] sehr ähnliche Maßnahmen verwendet. Anscheinend ist das Pankreas noch nicht auf seinen Hyaluronidasegehalt untersucht worden; in der neuesten Zusammenstellung von Gibian[8] findet sich nichts darüber.

Im Gegensatz zur Abnahme der Metachromasie nach Einwirkung von Elastase stehen die Befunde bei Anwendung der Alcian Blue-Färbung und der Methylenblau-Extinktion. Über die chemischen Vorgänge der Darstellungsmethode saurer Mucopolysaccharide mit Alcian Blue ist nach der vorliegenden Literatur wenig bekannt. Pearse[17] bezeichnet die Färbung als sicher und sieht intensiv blaugrüngefärbte Reaktionsorte als beweiskräftig für die Anwesenheit von Mucopolysaccharidsäuren an. Demnach wäre für den positiven Ausfall dieser Färbung ein hoher

Polymerisationsgrad der darzustellenden Substanzen nicht erforderlich. Der Nachweis von Sulfatgruppen mit der Methylenblau-Extinktionsmethode macht es wahrscheinlich, daß diese Färbung ebenfalls an das Vorhandensein schwefelsaurer Gruppen gebunden sein könnte. Daraus ergibt sich, daß freie Säureradikale allein wohl nicht ausschlaggebend für eine Metachromasie sein können.

Der negative Ausfall der HOTCHKISS-Reaktion ist in diesem Zusammenhang nur dahingehend zu deuten, daß Aldehydgruppen nach Behandlung von Elastase nicht mehr nachweisbar sind.

Die Elastasewirkung an pathologisch veränderten Strukturen von Aorten läßt eindeutig in Übereinstimmung mit PEPLER u. BRANDT[18] einen Depolymerisationseffekt erkennen. Diese Wirkung ist ebenfalls von der Hyaluronidase bekannt; es ist möglich, am gleichen Material durch Einwirkung von Hyaluronidase elastaseähnliche Effekte an elastischen Strukturen zu erzeugen. Es finden sich dabei ähnlich den von BANGA angegebenen Befunden spindelige Auftreibungen der elastischen Fasern mit herabgesetzter Anfärbbarkeit für Orcein, in denen sich deutliche periodisch angeordnete Querstreifungen finden lassen. Aus diesen Befunden lassen sich jedoch nicht ohne weiteres, wie es PEPLER u. BRANDT[18] getan haben, Schlüsse auf Identitätsverhältnisse zweier Fermente ziehen. Es bleibt zu klären, ob Elastase in der von BANGA[3] angegebenen Darstellungsmethode nicht Beimengungen von hyaluronidaseartigen Stoffen enthält.

Die von HALL u. Mitarb.[10] angenommene Depolymerisation durch Elastase läßt sich also in Erweiterung der Befunde von PEPLER u. BRANDT[18] auch an pathologisch auftretenden Mucopolysaccharidsymplexen nachweisen. Dieses Verhalten kann man in Übereinstimmung mit BANGA u. NOWOTNY[4] als eine Auflösung von Wasserstoffbrücken deuten. Wahrscheinlich werden aber auch heteropolare Valenzbindungen zerstört. Der Nachweis freier saurer Gruppen spricht weiter wohl dafür, daß die Elastase im Gewebe keine Polysaccharidsäuren abbaut; diese liegen vielmehr an ihren freien Säuregruppen kenntlich innerhalb der Strukturen, geben aber auf Grund der Zerstörung bestimmter bisher nicht näher definierbarer Bindungstypen keine metachromatische Reaktion mehr.

Zusammenfassung.

Am Modell der kombinierten Adrenalin-Cholesterin-Sklerose des Kaninchens werden die Wirkungen von Elastase auf pathologisch veränderte Gefäßstrukturen beschrieben. Dabei zeigt sich neben einer Elastolyse ein Depolymerisationseffekt an den Mucopolysaccharidsymplexen ähnlich einer Hyaluronidasewirkung. Ein Abbau von Polysaccharidsäuren scheint jedoch nicht stattzufinden.

Literatur.

[1] Balo, J., u. I. Banga: Acta physiol. (Budapest) **4**, 187 (1953). — [2] Balo, J., u. I. Banga: Schweiz. Z. allg. Path. **12**, 350 (1949). — [3] Banga, I.: Acta physiol. (Budapest) **3**, 317 (1952). — [4] Banga, I., u. A. Nowotny: Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. **4**, 54 (1951). — [5] Banga, I., u. D. Schuler: Acta physiol. (Budapest) **4**, 13 (1953). — [6] Benitz, K.-F.: Arzneimittel-Forsch. **4**, 731 (1954). — [7] Benitz, K.-F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **223**, 420 (1954). — [8] Gibian, H.: Ergebn. Enzymforsch. **13**, 1 (1954). — [9] Gomori, G.: Microscopic Histochemistry. Chikago 1953. — [10] Hall, D. A. u. Mitarb.: Nature (Lond.) **170**, 264 (1952). — [11] Hertel, H.: Diss. Pharmakol. Inst. Univ. Hamburg 1954. — [12] Lison, L.: Zit. nach Pearse (1954) und Gomori (1953). — [13] Meyer, K.: Zit. nach Altshuler, Ch. H., and D. M. Angevine: Amer. J. Path. **27**, 141 (1950). — [14] Michaelis, L., and S. Granick: J. Amer. Chem. Soc. **67**, 1212 (1945). — [15] Neckel, I.: Naturwissenschaften **40**, 463 (1953). — [16] Pearse, A. G. E.: Histochemistry. London 1954. — [17] Pearse, A. G. E.: Persönliche Mitteilung 1954. — [18] Pepler, W. J., and F. A. Brandt: Brit. J. Exper. Path. **35**, 41 (1954). — [19] Schwarz, W., u. N. Dettmer: Virchows Arch. **323**, 243 (1953).

Dr. K.-F. Benitz, Hamburg, Pharmakol. Institut d. Univ.

Druckfehler-Berichtigung

zum Vortrag Schulemann in Arch. exper. Path. **225**, 45—63 (1955) — Bericht über die 21. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft vom 3.—6. Oktober 1954.

In der Überschrift auf Seite 45 muß das letzte Wort richtig heißen: Malariatherapie.

Auf Seite 49 muß es in der viertletzten Zeile richtig heißen: 4-Aminochinolin.

Die Druckfehler sind nachträglich durch ein Versehen der Druckerei entstanden.